ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris et J.-F. HEYMANS, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

VOLUME XXVIII, FASCICULE I-II.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR.
58, RUE COUDENBERG

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON.

1923

Table des matières des volumes antérieurs.

ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris et J.-F. HEYMANS, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

VOLUME XXVIII.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, EDITEUR.
58, RUE COUDENBERG

PARIS
O. DOIN, EDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON.

1924

MAISON D'ÉDITION I. VANDERPOORTEN, RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.

Table des matières du vol. XXVIII.

Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine
de Paris.
Directeur Prof. F. Bezançon.

Sur la constitution du Bactériophage de D'Hérelle et sur le mécanisme de la lyse.

par le

Docteur PAUL HAUDUROY.

Le phénomène découvert par d'Hérelle est aujourd'hui bien connu des biologistes. Il s'agit de la lyse indéfiniment transmissible en série d'un certain nombre de bactéries. Des hypothèses nombreuses ont été échafaudées pour expliquer la nature du bactériophage : pour d'Hérelle il s'agit d'un ultra-virus parasitant les microbes lysables et se reproduisant à leurs dépens. Cette théorie est appuyée par des faits expérimentaux exacts et elle a seule — pour le moment — l'avantage d'expliquer toutes les modalités du phénomène.

Mais un certain nombre de notes récemment publiées montre que le principe lytique est un complexe et que le mécanisme de la lyse n'est pas celui que d'Hérelle avait envisagé. Il est intéressant, croyons-nous, de voir si ces notions nouvelles nous font comprendre comment les microbes sont détruits.

I. — Les lysines du Bactériophage.

Examinons d'abord la manière dont d'Hérelle avait conçu le mécanisme de la lyse. « Il est évident, — dit-il — que l'ultra-microbe bactériophage ne peut dissoudre les bactéries par sa seule présence : il ne peut exercer son action qu'au moyen de diastases lytiques ». (*Le Bactériophage*, p. 94).

Ceci est parfaitement logique et on ne conçoit pas en effet une action « mécanique » d'un ultra-virus capable de produire une lyse.

« Dans une culture de Bactériophage (culture aux dépens du microbe « lysable) les lysines qui ont servi à dissoudre les Bactéries doivent « rester en solution une fois la lyse terminée ; d'un autre côté l'ultra- « microbe ne résiste pas à l'action de l'alcool. Il nous suffit donc, pour « obtenir les lysines, de faire subir à la culture de Bactériophage le « traitement classique de séparation des diastases.

« Mélangeons un volume de Bactériophage anti-dysentérique avec « neuf volumes d'alcool à 96°. Après quarante huit heures de con- « tact, le précipité qui s'est formé s'étant bien rassemblé, décantons le « liquide surnageant. Le précipité qui renferme les lysines mélangées « avec toutes les substances du milieu précipitables par l'alcool est presqu'entièrement soluble dans l'eau salée ».

D'HÉRELLE expose ensuite le protocole d'une expérience que je résume. On mélange parties égales de bouillon et de précipité alcoolique repris par l'eau physiologique. On ensemence avec quelques gouttes d'une culture de bacilles de Shiga. Le témoin est fait — en pensant à la dilution — avec du bouillon auquel on ajoute partie égale d'eau salée à 8 pour 1000. Après 24 heures d'étuve, le témoin est trouble, le bouillon renfermant la lysine légèrement louche.

Après 48 heures le témoin est très trouble et la culture renfermant la lysine légèrement louche. L'étalement sur gélose montre qu'il y a « vingt-deux fois moins de bacilles vivants » dans le tube d'expérience que dans le témoin.

« A aucun moment, ajoute D'HÉRELLE, on n'obtient sur la gélose « de plages caractéristiques et l'action ne se continue pas en série.

« Le précipité par l'alcool renferme donc une diastase lytique « libre d'ultra-microbes vivants. L'action dissolvante quoique nette « est faible..

Tous ces faits sont exacts. On obtient, en suivant la technique que je viens de rapporter, les résultats annoncés. Remarquons simplement qu'il n'y a pas d'action dissolvante, à proprement parler, mais bien plutôt une action empêchante sur la culture.

Mais si, comme je l'ai montré, on répète la même expérience en partant de bouillon de culture ordinaire, on arrive exactement au même résultat. Le précipité alcoolique repris en eau physiologique ajouté au milieu a, lui aussi, la propriété d'arrêter le développement des microbes ensemencées.

Que conclure? que l'alcool seul joue un rôle dans toutes ces expériences. Il en est resté accolé au précipité une quantité suffisante pour entraver le développement du bacille de Shiga. Il n'y a pas d'action lytique ni en se servant du bactériophage ni en se servant du bouillon ordinaire.

On peut facilement faire la contre-épreuve. Il suffit d'enlever l'alcool. Après divers essais, je me suis arrêté à la technique suivante. On précipite par 9 volumes d'alcool un volume de bactériophage. Après 48 heures on décante et avant de reprendre le précipité par l'eau physiologique, on le dessèche; un séjour à l'étuve à 37° de 2 heures environ suffit. On le redissout dans l'eau physiologique et on ajoute à parties égales à du bouillon ordinaire qu'on ensemence avec du bacille de Shiga — si l'on est parti de lysat anti-dysentérique. Les résultats obtenus peuvent être les suivants : ou bien il y a une culture normale

du microbe ensemencé, ou bien il y a lyse partielle ou totale qui peut se continuer indéfiniment en série.

Dans le premier cas le bactériophage a été tué par le contact de 48 heures avec l'alcool. Dans le second cas, ce délai n'a pas suffi.

Mais, quel que soit le résultat, à aucun moment on ne voit apparaître de substances lytiques à action limitée.

Remarquons d'ailleurs que, contrairement à ce qu'avait avancé D'HÉRELLE, le délai de deux jours n'est parfois pas suffisant pour que l'alcool tue le principe. La rapidité d'action de l'alcool est en rapport étroit avec la « virulence » de la souche sur laquelle on opère. Plus cette virulence est grande, plus l'alcool doit agir longtemps.

Peut-on dire — à la suite de ces expériences — que les lysines n'existent pas? Je pense qu'on doit dire simplement que nous ne savons pas les isoler. Leur existence et par suite l'explication du phénomène rentre toute entière dans le domaine de l'hypothèse, aucun fait expérimental ne venant plus l'étayer. Il est curieux cependant que la méthode habituelle d'isolement n'ait pas réussi ici. Ce résultat négatif autorise toutes les hypothèses et doit nous inciter à chercher dans une autre voie.

II. — La constitution du Bactériophage.

a) *Action de la chaleur.*

Dans son livre et dans diverses notes D'HÉRELLE dit que le Bactériophage est tué par un séjour de 30 minutes à la température de 60°C. D'autres auteurs ont donné des chiffres différents. J'ai repris cette étude en ne me limitant pas à une seule souche de lysat, mais en en examinant le plus grand nombre possible. C'est la comparaison des résultats obtenus qui m'a permis de voir la complexité de composition du bactériophage.

Voici d'une façon précise la technique que j'ai suivie. On met dans un tube stérile non scellé le principe lytique. On le trempe au bain-marie dans de l'eau à la température du laboratoire. On chauffe jusqu'à ce que l'on atteigne la température désirée, on maintient cinq minutes, on retire le tube.

Les chiffres que je vais donner ne sont évidemment valables que si l'on a soin d'opérer ainsi. Ils seront moins élevés en prolongeant les temps. Le Bactériophage étant chauffé, il est nécessaire de savoir s'il est encore actif. Pour ce faire on en introduit une quantité déterminée dans un tube de bouillon qu'on ensemence avec le microbe lysable. La même quantité non chauffée servira de témoin et devra produire le phénomène. Si on opère sur une série de souches, on constate que les températures ou le bactériophage cesse de manifester son action sont

variables. Les unes résistent d'emblée à des températures relativement élevées, d'autres sont rapidement détruites. On trouvera réunis dans le tableau suivant quelques chiffres.

Souches	lysant les microbes suivants.	Température de cessation d'activité.	Temp. de mort.	Virulence de la souche.
Shiga I	Shiga	5′ à 90°	102°–5′	+ + + +
	Coli	5′ à 75° (1′ à 70°)		+ +
Shiga II	Shiga	5′ à 60°	102°–5′	+ +
	Coli	5′ à 60°		+ +
Shiga III	Shiga	5′ à 80°	102°–5′	+ + +
	Coli	5′ à 70°		+ +
Shiga IV	Shiga	5′ à 75°	102°–5′	+ + +
Coli	Coli	5′ à 60°	102°–5′	+ +
	Shiga	5′ à 60°		+ +
Entérocoque	Entérocoque	5′ à 70°	102°5′–	+ + +
Typhique	Typhique	5′ à 70°		+ + +
	Coli	5′ à 60°		+ +

On était en droit de se demander d'abord, en présence de ces faits, si le bactériophage était bien réellement mort ou s'il n'était pas simplement inactivé. J'ai montré que cette seconde hypothèse était la vraie. En prenant le mélange (bactériophage chauffé + microbe), mélange où il n'y a pas eu de lyse, en le filtrant et en lui faisant subir ainsi une série de passages, on arrive à voir reparaître le phénomène.

La bactériophage n'avait donc pas été détruit par le chauffage : il n'avait subi qu'une simple inactivation.

Il était nécessaire de connaître la température de mort. Elle est, d'après mes expériences, de 102° (5 minutes au bain-marie) ; de 145°, le bactériophage étant à l'état sec (précipitation par l'alcool et chauffage au four Pasteur).

Voici donc une série de faits nouveaux, curieux, et qu'on peut résumer de la façon suivante :

1°) Il existe une température d'inactivation du bactériophage variable avec la souche envisagée.

2°) Il existe une température mortelle du Bactériophage, la même, semble-t-il, pour toutes les souches.

L'étude approfondie de la température d'inactivation m'a permis en outre de constater que :

1°) La température d'inactivation est en rapport avec la puissance lytique de la souche envisagée. Plus celle-ci est active, mieux elle résiste au chauffage. Si on exalte la virulence d'une souche par des passages successifs, on voit en même temps sa résistance à la chaleur augmenter. Ces faits avaient été publiés par MM. WERNBERG et AZNAR et j'ai pu les vérifier maintes fois.

2°) La température d'inactivation n'a aucun rapport avec la température de mort du microbe lysable.

3°) Le bactériophage inactivé par chauffage et abandonné à lui-même, ne récupère jamais son activité.

4°) La chaleur permet de dissocier la polyvalence d'une souche de lysat (ceci ressort de l'examen du tableau I).

b) *Action du sérum anti-dysentérique.*

Qu'a donc fait la chaleur dans toutes ces expériences? Deux hypothèses peuvent être envisagées ; ou bien on a détruit « quelque chose », ce quelque chose étant nécessaire pour que la lyse se fasse ; ou bien on a simplement atténué la « virulence » du produit, de telle sorte que le phénomène ne peut plus apparaître.

L'hypothèse de l'atténuation de la virulence n'explique pas pourquoi les températures d'inactivation sont différentes. Elle n'explique pas non plus le rapport entre la virulence d'une souche et sa résistance à la chaleur.

De multiples expériences d'ailleurs viennent confirmer l'hypothèse première.

Supposons-la exacte pour un moment : une substance venant du microbe et destructible par la chaleur est nécessaire pour que la lyse se fasse. Cette substance est forcément une substance soluble sécrétée dès que la bactérie commence à se développer. La seule lyse possible des microbes jeunes en est une preuve. Par quel artifice pourrions-nous empêcher cette substance de manifester son action? Par le sérum anti. C'est là en effet, nous semble-t-il, le seul procédé qui soit à notre disposition. Pour fabriquer un sérum—et en particulier le sérum anti-dysentérique qui nous sert dans ces expériences — on injecte des cultures totales vivantes qui, si elles contiennent des corps microbiens, contiennent aussi leurs produits de sécrétion. Logiquement, en mettant ce sérum en présence d'un mélange microbe (b. de Shiga) et bactériophage on doit anihiler l'action de la substance soluble qui est nécessaire pour la lyse. La bactérie en tant que cellule n'est pas visiblement touchée et l'expérience montre que le bacille dysentérique se

développe parfaitement dans le sérum thérapeutique. Voyons si l'expérience répond à notre hypothèse.

Prenons une série de tubes dans lesquels nous distribuons des quantités égales d'une culture jeune de Bacilles de Shiga. Mettons, dans chacun d'eux, une goutte de bactériophage antidysentérique, quantité qui serait suffisante pour produire la lyse. Ajoutons, du tube 1 au tube 20, par exemple, des doses croissantes de sérum antidysentérique de l'Institut Pasteur : le premier tube en recevra II gouttes ; le deuxième IV gouttes, etc. ; le 20e, XL gouttes. Après trois ou quatre heures d'étuve, les tubes témoins seront complètement lysés, les tubes 1 à 5 (c'est-à-dire contenant II à X gouttes de sérum antidysentérique) seront lysés, les tubes 6 à 20 seront encore troubles. Après 7 à 8 heures, la lyse sera faite dans les tubes 6, 7, 8... En examinant à la 10e, 12e, 16e heure, on constate que les Bacilles des tubes 9, 10, 11... 16, 17, ont disparu. Seuls, malgré la prolongation de l'expérience, les tubes 18, 19, 20, sont restés troubles (1).

Aucun autre sérum thérapeutique ne possède cette propriété. L'expérience réussit avec du sérum antidysentérique vieux ou neuf et provenant de chevaux différents : avec diverses souches de Bacilles de Shiga et avec toutes les souches de Bactériophage antidysentérique que j'ai essayées.

Les souches de Bacilles de Shiga, dont je me suis servi, ne sont pas lysogènes. La souche qui sert à l'institut Pasteur à préparer les sérums antidysentériques n'est pas lysogène. Le sérum antidysentérique ne possède pas, par lui-même, de propriété lytique. Il ne possède pas non plus de propriété antilytique : il aurait alors pour effet de tuer les malades auxquels on l'injecterait.

Sur quoi, dans le mélange (Bacilles de Shiga+Bactériophage), agit le sérum antidysentérique? Sur les sécrétions du Bacille de Shiga. En effet, si on filtre, au moment où la lyse ne s'est pas encore faite, un des tubes de l'expérience précédente, on retrouve intact le Bactériophage qu'on a ajouté, capable de lyser immédiatement et avec la même force.

En résumé, le sérum anti-dysentérique retarde la lyse du Bacille de Shiga par le Bactériophage. Voici une première preuve à l'appui de l'hypothèse que nous avancions tout à l'heure.

Les expériences suivantes nous en apportent d'autres.

Chauffons à la température d'inactivation une souche de bactériophage active sur le Bacille d'EBERTH et inactive sur le B. Coli. Nous devons avoir détruit la substance soluble. Mettons ce bactériophage chauffé en présence de b. coli : après trois ou quatre passages le microbe est lysé. Le témoin (Bactériophage non chauffé sur le même

(1) Les chiffres indiqués ici ne sont valables que pour une souche de Bactériophage. Il est nécessaire de tâtonner pour trouver les doses de sérum à ajouter, doses variables avec l'activité du lysat employé.

colibacille) ne donne pas le phénomène malgré les passages. — Je pense que les substances secrétées par le colibacille ont en quelque sorte « pris la place » de celles sécrétées par le B. d'Eberth et que nous avons détruites par le chauffage. Je dois dire que les résultats de cette expérience sont irréguliers. Je n'ai pu la réussir que deux fois sur cinq essais sans pouvoir trouver la raison des échecs.

MM. BORDET et CUICA ont signalé dans une note une modalité du phénomène (1).

Si on ajoute, disent-ils, du principe à une très légère émulsion de colibacilles, on voit d'abord la culture se troubler : la lyse ne se fait que plus tard. Le microbe doit se développer pour être lysé. Le fait constaté par BORDET et CUICA ne se produit qu'avec des souches peu actives. La lyse est immédiate avec des souches très « virulentes ». N'est-ce pas là une preuve que le microbe doit sécréter « quelque chose » pour que le phénomène apparaisse?

On sait, d'autre part, que le bactériophage n'agit pas sur les microbes morts. Ceci vient encore confirmer notre hypothèse : il a besoin de matière vivante pour produire le phénomène.

Une expérience enfin de S. da Costa Cruz (2) apporte encore une preuve. Le filtrat d'une culture vieillie de bacille de Shiga a la propriété d'empêcher l'action anti-lytique du sérum. En ajoutant ce filtrat, n'ajoute-t-on pas tout simplement la « substance soluble » nécessaire à la lyse?

On voit que tout vient confirmer l'hypothèse que nous avons émise : le Bactériophage n'est pas, comme l'a cru D'HÉRELLE, un produit simple.

Il s'agit évidemment d'un complexe comprenant, d'une part, le Bactériophage, substance vivante, capable de se reproduire, et d'autres part, une substance venant du microbe. Que l'on vienne à dissocier ce complexe (par la chaleur, par le sérum) la lyse ne se fait pas.

Peut-on, avec ces données nouvelles, essayer d'expliquer le mécanisme de la lyse?

Non, à franchement parler. Elles nous permettent simplement d'entrevoir que les ferments lytiques issus du bactériophage, tel que le voulait D'HÉRELLE, n'existant probablement pas, nous nous trouvons en présence d'un phénomène d'une complexité extrême. Toutes sortes d'hypothèses peuvent être envisagées ; mais jusqu'ici aucun fait expérimental n'a apporté de preuve à l'appui de l'une d'entre elles.

Tant que nous ne saurons pas d'une façon précise ce qu'est le

---

(1) BORDET et CUICA. — Sur la régénération du principe actif dans l'autolyse microbienne. *C. R. Soc. Biol.* 1921, p. 1095.

(2) Sur la lyse microbienne transmissible, *Memor. Inst. Oswaldo Cruz*, t. XI' p. 104, 116.

bactériophage (1), nous ne pourrons probablement pas savoir quel est le mécanisme de la lyse.

Ces données ne seront pas cependant sans nous avoir éclairé un peu sur un certain nombre de points : celui en particulier des microbes résistants.

Des expériences non publiées faites avec A. BECKRICH nous avaient fait entrevoir qu'il n'y a probablement pas qu'une seule manière pour une bactérie d'être résistante à l'action du bactériophage.

Le fait que les microbes doivent sécréter une substance soluble nécessaire à la lyse nous en fait entrevoir deux au moins. Il y aurait d'abord des bactéries qui ne produiraient pas cette substance ; elles seraient d'emblée réfractaires et le resteraient malgré les passages avec filtration intermédiaire.

D'autre part, si on fait des recherches en série de bactériophage dans différents milieux (selles, eaux, terre) on en trouve souvent. Mais il est rare (sauf dans le cas des maladies infectueuses) qu'on le trouve du premier coup. Il faut remettre le filtrat en présence du microbe, deux ou trois fois pour voir la lyse apparaître. Les germes sont résistants, et le restent, jusqu'à ce que la substance soluble soit en assez grande quantité pour que le phénomène se produise.

Un dernier point enfin : celui de la spécificité du bactériophage.

D'HÉRELLE a beaucoup insisté sur la notion suivante : le bactériophage est un. Nous en avons apporté une preuve physique : la température de mort semble être la même pour toutes les souches.

Cette unicité est cependant difficile à expliquer. Pourquoi une souche donnée d'anti-Shiga ne lyse-t-elle jamais un coli-bacille? Pourquoi une autre, au contraire, a-t-elle une action très forte sur plusieurs microbes? Comment se fait-il qu'un ultra-virus unique ait à la fois cette spécificité et cette polyvalence?

Tout s'explique si l'on conçoit que c'est en quelque sorte le microbe lui-même qui fait la spécificité du bactériophage. C'est en sécrétant la substance soluble qu'il permet au lysat de produire le phénomène.

CONCLUSIONS.

1) La technique d'isolement des lysines indiquée par D'HÉRELLE ne permet pas en réalité d'obtenir ces ferments. L'alcool seul employé dans ces expériences joue un rôle d'arrêt.

2) Le chauffage du bactériophage permet de constater les faits suivants :

a) Il existe pour chaque souche une température où son action

(1) C'est d'ailleurs la question de la nature des virus invisibles qui se pose ainsi.

cesse de se manifester, variable avec la « virulence » de la souche envisagée, n'ayant aucun rapport avec la température de mort du microbe lysable.

b) Il existe une température mortelle, la même, semble-t-il, pour toutes les souches.

c) On peut dissocier la polyvalence d'un bactériophage en le chauffant.

d) Le sérum antidysentérique à doses convenables arrête la lyse du bacille de Shiga par le bactériophage.

3) Ces expériences permettent d'envisager le phénomène de d'HÉRELLE comme étant produit par un complexe formé d'un côté par le bactériophage, substance vivante, capable de se reproduire, de l'autre par une substance soluble sécrétée par le microbe. De multiples faits expérimentaux viennent à l'appui de cette hypothèse.

4) Elles ne nous permettent pas d'expliquer le mécanisme de la lyse, mais nous renseignent sur les microbes résistants et sur la spécificité du bactériophage.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. U. DI MESSINA
DIRETTORE: G. VINCI.

Ricerche chimiche e farmacologiche sul principio attivo-glicirizzina — della Liquorizia. (Glycyrrhiza glabra. *L.* — Glycyrrhiza α tipica. *Reg. e Herd.*).

PER

LUIGI TOCCO.
Aiuto.

Guarda bene fino al fondo che non ti sfugga l'essenza nè il valore di qualsiasi cosa.
Marco Aurelio. Libro IV Dei Ricordi.

Introduzione.

Non ostante la liquorizia sia una droga conosciuta da tempo remoto non abbiamo ancora cognizioni complete sulla sua composizione, sulla preparazione e sulle proprietà del suo principio attivo — la glicirizzina — come pure non mi risulta, dalla bibliografia che ho potuto scorrere, che uno studio farmacologico sia stato mai fatto da alcuno.

Le ricerche a me note si limitano a quelle personali del Witte dalle quali risulta una debole azione lassativa ed espettorante, invece l'azione che la glicirizzina o i suoi sali sono capaci di esplicare nell'organismo è molto importante ed intensa se somministrati per le vie artificiali di assorbimento e se preparati con tecnica adatta essendo la glicirizzina una sostanza di difficile preparazione e facilmente alterabile. In questa nota riferisco le prime ricerche farmacologiche fatte e dò un cenno fugace sui metodi di preparazione delle sostanze adoperate riservandomi di comunicare in sucessive note i risultati di altre ricerche farmacologiche e di quelle chimiche che ho in corso.

Nozioni generali e sostanze usate.

La glicirizzina, principio attivo della *Glycyrrhiza glabra* α *tipica*, non è una sostanza ancora chimicamente bene definita.

Sotto questo nome è comunemente intesa quella sostanza che si precipita da macerati o infusi o decotti di radice per aggiunta di un acido diluito, di sapore dolce intenso, di reazione acida, ottenuta amorfa e di colorito giallo-bruno da alcuni autori, da altri bianca e cristallizzata, che esiste nella pianta secondo alcuni AA. legata al K ed al Ca, al radicale NH^4 per altri, poco solubile in acqua, solubile nei liquidi alcalini con colorito giallo-oro.

Io ho sperimentato usando sia un estratto secco alcoolico di un digesto a 60° di radice di liquorizia portato a secchezza, sia il glicirizzinato di ammonio, sia la glicirizzina. Quest'ultima è di difficile preparazione.

Il sale glicirizzinico l'ho ottenuto seguendo in parte metodi di altri autori in parte modificandoli come dirò diffusamente in altra nota.

Dei vari alcalini, coi quali si può fare la soluzione acquosa di glicirizzina, prescelsi, quando non adoperai sali solubili, l'ammoniaca e il bicarbonato di sodio e li usai in modo di ottenere soluzioni neutre o appena acide al 4 %, talora più concentrate come dirò nei diversi capitoli.

Come animali da esperimento usai rane, piccioni, cavie, conigli e cani.

Azione generale.

Rane. — La glicirizzina, somministrata per bocca alle rane in dose dieci volte maggiore (gr. 1,20-1,40 per 100 gr. di rana) di quella sicuramente mortale per iniezione nel celoma, è inattiva.

Se si inietta nel celoma di una rana una dose mortale di glicirizzina al 4 %, subito dopo l'iniezione l'animale salta spontaneamente e si comporta come se fosse normale, ma trascorsi pochi minuti (7-10), la rana perde la sua vivacità, diventa torpida nei movimenti, eccitata non reagisce o se spicca un salto ritira lentamente gli arti inferiori o li tiene distesi. Messa sul dorso tenta con movimenti disordinati di girarsi ma spesso non ci riesce. In seguito (25'-30') i movimenti volontari diventano rari, l'animale resta immobile, i riflessi si affievoliscono finchè, dopo un certo tempo, finiscono con lo scomparire tanto che pizzicando fortemente o bruciando un arto l'animale non reagisce. Il respiro si indebolisce, poi cessa.

Arrivati a questo punto dell'intossicazione isolavo e tagliavo tra due fili uno sciatico. La stimolazione elettrica del moncone centrale non determina nessun movimento nel resto del corpo, mentre stimolando il moncone periferico ottengo, sebbene poco energica, la contrazione dei muscoli della zampa corrispondente, in seguito i musculi non reagiscono più. Se si mette il cuore allo scoperto si trova dilatato, pulsa lentamente con contrazioni deboli ed incomplete. La stimolazione con una corrente indotta del seno venoso non produce più arresto del cuore. Tagliando l'aorta fuoriesce ad ogni pulsazione pochissimo sangue di colore rosso-bruno-scuro.

Il cuore si ferma in diastole.

La dose letale nelle rane per iniezione nel celoma è di cgr. 12-14 di glicirizzina per cento gr. di rana.

Questa dose però iniettata nei sacchi linfatici o nei muscoli non basta per uccidere la rana, per queste vie è necessaria una dose maggiore (cgr. 18-21 per cento gr. di rana) e la morte avviene dopo 6-7 ore coi sintomi sopradescritti.

Iniettando dosi di molto minori della letale (cgr. 6-7 per cento gr. di rana) sia nel celoma che nei sacchi linfatici osservai sempre grande depressione, incoordinazione dei movimenti, questi fatti però diminuirono rapidamento di intensità e dopo 4-6 ore l'animale era rimesso.

Piccioni. — Gli animali, ai quali si sia iniettata sotto cute glicirizzina alla dose di gr. 0,45-0,50 per Kg., hanno dopo un'ora dalla somministrazione emissione abbondante di escrementi prima solidi poi liquidi intensamente colorati in giallo; forte depressione e rigurgito di sostanze colorate in giallo le quali trattate con acido nitrico concentrato non danno la reazione dei pigmenti biliari.

La depressione e gli altri disturbi spariscono in 24 ore circa.

Cavia. — Alla dose di un gr. per Kg. di animale la glicirizzina iniettata sotto cute porta a morte le cavie in meno di 24 ore. Dopo mezz'ora circa dall'iniezione l'animale si lamenta, è torpido con tendenza al sonno, in seguito si ha forte depressione generale, le pulsazioni cardiache diminuiscono di numero, la secrezione urinaria scarseggia ed emette feci diarroiche.

Alla autopsia si nota: cuore flaccido fermo in diastole, organi interni colorati in giallo-bruno, vescica vuota.

In queste esperienze usai la glicirizzina in soluzione ammoniacale acquosa al sette per cento.

Cani. — La glicirizzina per via orale a dose di 1-2 gr. per Kg. di animale dopo qualche ora dalla somministrazione non determina altro che qualche scarica alvina prima dura poi poltacea, ma per via sottocutanea ed endovenosa presenta azione depressiva come nelle rane.

Via sottocutanea — Ho sempre eseguito queste iniezioni senza fissare il cane, ma facendolo tenere da un assistente adagiato sopra un fianco. Praticavo l'iniezione in diversi punti del dorso e quindi facevo un vigoroso massaggio. Durante queste manovre i cani non si muovono nè si lamentano.

Somministrai per questa via dosi di 0,30-2 gr. per Kg. sciolte in cm^3 50 di acqua distillata con ammoniaca o bicarbonato di sodio fino a reazione neutra o appena alcalina.

Appena lasciati liberi i cani si presentano prima come normali poi mostrano lieve irrequietezza buttandosi a terra e levandosi per diverse volte di seguito come se in ogni posizione stessero a disagio, in seguito compaiono lievi sintomi di depressione che però spariscono in 1-3 ore anche per le forti dosi. Si notò: due o tre scariche alvine prima dure poi molli, andatura barcollante, diminuzione della frequenza respiratoria, tendenza al sonno.

Via endovenosa — la glicirizzina per questa via è letale alla dose di 0,45-0,50 per Kg. di cane. Come il farmaco defluisce lentamente nelle vene i cani cessano di lamentarsi e non si dibattono più. Il respiro si fa superficiale e raro, le pulsazioni frequenti e piccole. In seguito ha qualche conato di vomito, la pressione sanguigna si abbassa e i battiti cardiaci si fanno tanto deboli e rari che, tagliando una carotide messa allo scoperto, ad ogni pulsazione (43 per 1') fuoriesce solo ½-1 cm^3 di sangue che non coagula.

A questo punto sospendendo l'iniezione, suturata rapidamente la ferita e liberato il cane, si osserva che la sensibilità e la motilità sono profondamente alterate.

L'animale giàce sopra un fianco, pizzicato o comunque stimolato, reagisce appena,

tratto tratto è scosso da qualche scossa convulsiva; emette feci prima solide e poi liquide. In questa posizione permane per molto tempo (6-7 ore), le pulsazioni cardiache si fanno lente e debolissime, il respiro diventa stertoroso e l'animale muore.

Riporto una esperienza.

Esp. I. — Cane m. di Kg. 9.500, digiuno da 12 ore.

Ore 9 — Fissato l'animale nell'apparecchio di contenzione isolo la vena g. s. e vi fisso una cannula per iniezione endovenosa con tubo di caucciù collegato ad una buretta graduata contenente gr 4,50 di glicirizzina sciolta in 40 cm^3 di acqua esattamente alcalinizzata sino a reazione neutra con $NaHCO^3$.

Ore 9,30. — Faccio defluire il liquido lentamente nella vena (un cm^3 ogni 30 secondi).

Ore 9,35. — L'animale non si lamenta più. Il respiro è superficiale, le pulsazioni frequenti e piccole.

Ore 9,45. — Si sono iniettati 30 cm^3 di liquido. L'animale è immobile. Riflesso congiuntivale bene conservato. Battiti cardiaci rari e debolissimi (43 per 1').

Ore 9,50. — Finita l'iniezione l'animale viene liberato. Giace sopra un fianco. Scosso, pizzicato reagisce appena.

Ore 12. — Giace sempre immobile. Dispnea leggera. Vomito. Scosso fortemente reagisce appena con qualche movimento del capo.

Ore 16. — L'animale è sempre immobile. Ha emesso feci prima solide poi liquide. Cuore sempre più debole.

Ore 17. — L'animale muore senza convulsioni.

* * *

Da queste esperienze risulta che *la glicirizzina è letale per i comuni animali da esperimento ai quali venga somministrata par le vie artificiali di assorbimento e la morte avviene con fenomeni di forte depressione generale, specialmente a carico del cuore e del sistema nervoso centrale.*

Azione sul midollo spinale.

La glicirizzina portata direttamente, tanto nelle rane che nel cane, sul midollo spinale col crescere della dose determina prima incoordinazione dei movimenti e leggera paresi, pur rimanendo la sensibilità integra o di poco diminuita; in ultimo i riflessi e la sensibilità sono perduti completamente: le dosi adoperate sono piccole e tali che per iniezione endovenosa non riuscirebbero a dare alcun disturbo.

Riporto alcune esperienze.

Esp. II. — Rana di gr. 35.

Ore 17. — Fissata la rana sulla tavoletta scopro la colonna vertebrale e metto allo scoperto il midollo per la lunghezza di tre vertebre. Liberato, l'animale salta normalmente.

Ore 18. — Instillo sul midollo spinale una goccia di soluzione di glicirizzina al quattro per cento.

Ore 18,5 — L'animale dopo aver saltato ritira gli arti posteriori lentamente.

Ore 18,7. — Salta a stento e nel ritirare il treno posteriore compie dei movimenti disordinati. La sensibilità è conservata.

Ore 18,10. — I muscoli tensori prendono la prevalenza sui flessori, la rana piega a stento gli arti che dopo il salto restano distesi.

Ore 18,30. — E' immobile con le gambe distese. Reagisce appena agli stimoli.

Ore 19,15. — Vien trovata morta.

Esp. III. — Cane Kg. 8.

Legatolo bocconi sull'apparecchio di contenzione infiggo il lungo ago di una siringa di vetro obbliquamente in avanti ed in dentro e dall'alto in basso nella regione lombare e penetro tra l'ultima vertebra lombare e la prima sacrale.

Ore 16. — Inietto cgr. 24 (3 cgr. per Kg.) di glicirizzina sciolta in cm^3 2 di acqua distillata ed esattamente neutralizzata con bicarbonato di sodio. L'animale non si lamenta. Slegatolo osservo leggera paresi del treno posteriore, obbligandolo correre incrocia le gambe posteriori e cade. La sensibilità è conservata.

Ore 16,10. — Cammina a stento e compie col treno posteriore movimenti incerti.

Ore 16,15. — Compare qualche contrazione muscolare a tipo tonico.

Ore 16,20. — E' molto abbattuto. Riposa sul ventre immobile, con gli arti posteriori distesi. Dispnea intensa. Vomito. Pizzicato non reagisce.

Ore 16,30. — Perde feci ed orina. — Dispnea.

Ore 16,45. — Sempre immobile con gli arti distesi. Forte dispnea.

Ore 16,55. — Muore.

* * *

Da queste esperienze, e da altre numerose che non riporto per brevità, risulta che *la glicirizzina portata sul midollo spinale o iniettata nel canale rachideo a piccole dosi, porta a morte gli animali da esperimento determinando prima paresi e depressione della sensibilità generale come abbiamo osservato studiando l'azione generale, in seguito abolizione della sensibilità e paraplegia completa.*

Azione sulla corteccia cerebrale.

Ho studiato l'azione della glicirizzina sulla corteccia cerebrale sia applicandola direttamente sul cervello messo allo scoperto, sia per iniezione submeningea. Comunque si esperimenti esplica sempre azione depressiva.

Se si mette una goccia di soluzione di glicirizzina sul cervello di una rana messo allo scoperto l'animale si comporta subito come una rana scerebrata.

Se, praticata una breccia nella scatola cranica di un cane, si inietta una piccola quantita di soluzione di glicirizzina sotte le meningi, l'animale resta immobile come se fosse in preda a sonno profondo, la sensibilità prima è conservata, poi diminuisce e sparisce, in seguito si ha qualche scossa convulsiva a tipo tonico-clonico, dispnea, vomito, perdita di feci e muore. Per applicazione locale inoltre l'eccitabilità elettrica della corteccia è molto diminuita.

Riporto i protocolli di alcune esperienze.

Esp. IV. — Rana di gr. 36.

Ore 16. — La fisso sopra una tavoletta e metto il cervello allo scoperto. Liberata salta e si muove come se fosse normale.

Ore 16,20. — Instillo sul cervello una piccola goccia di soluzione di glicirizzina al quattro per cento.

Ore 16,22. — L'animale è immobile, insensibile all'ambiente esterno. Eccitato salta. Rovesciata sul dorso riprende vivacemente la posizione normale.

Ore 17. — La rana mantiene sempre la sua posizione.

Ore 18. — Id. Eccitata reagisce meno vivacemente. Si sospende l'esperienza.

Esp. V. — Cane m. Kg. 5,500. Legato l'animale sul ventre all'apparecchio, pratico una piccola breccia sul cranio e l'allargo in modo da permettermi d'introdurre l'ago di una siringa sotto le meningi.

Ore 15. — Inietto cgr. 9 di glicirizzina sciolta in due cm^3 di acqua distillata. Si scioglie subito l'animale.

Ore 15,2. — Il cane è immobile come se dormisse profondamente. Pizzicato reagisce.

Ore 15,7. — Si lamenta, fa qualche movimento disordinato degli arti. Pizzicato reagisce appena.

Ore 15,15. — E' sempre immobile adagiato sul fianco. Tratto tratto è scosso da rare convulsioni a tipo tonico-clonico. Vomita. E' insensibile agli stimoli.

Ore 15,20. — Perde le feci. Dispnea.

Ore 15,25. — Ha qualche movimento disordinato e muore.

* * *

Da queste esperienze, e da altre che non riporto, ritengo si possa concludere che *la glicirizzina, portata sul cervello a piccole dosi e tali che per iniezione endovenosa sarebbero innocue, determina gravi fenomeni di depressione, abolizione della sensibilità dolorifica e, in seguito, porta a morte gli animali.*

Azione sul cuore e sul circolo.

Nel capitolo « Azione generale » riferii che questa sostanza diminuisce l'attività cardiaca ed arriva fino a paralizzarla completamente : modificazioni che possiamo seguire passo passo mettendo allo scoperto il cuore di una rana avvelenata con glicirizzina.

Dopo un tempo variabile dalla somministrazione del farmaco, pochi minuti se viene iniettato nel celoma più tardi se sotto cute o nello spessore dei muscoli della coscia, si osserva che il cuore si riempie meno e le sistoli sono meno energiche, in seguito si ha diminuzione della frequenza dei battiti cardiaci che si fa sempre più notevole, la diastole si fa più ampia, la pausa più lunga ; in ultimo avvengono arresti temporanei del cuore che si succedono sempre più spesso e finalmente il cuore flaccido si ferma in diastole.

Eccitato reagisce appena, ma, dopo un certo tempo, non risponde più.

Esp. VI. — Rana gr. 30. — Fissata sopra un sughero si mette il cuore allo scoperto.

Tempo	Pulsazioni cardiache in un minuto primo	Osservazioni
ore 15,45	80	
» 15,50	80	
» 15,55	80	
» 16		iniettato gr. 0,04 di glicirizzina in ½ cm^3 nel. celoma.
» 16,5	80	
» 16,10-16,15	80	
ore 16,20	74	
» 16,25-16,30	60	
» 16,35	50	
» 16,40-16,45	36	
» 16,50-16,55	32	
» 17	30	
» 17,10-17,20	18	
» 17,20-17,25	8	Cuore flaccido arrestato in diastole, toccato si contrae appena.

Lo stesso comportamento ha il cuore della rana alla quale è stata somministrata prima una forte dose di atropina (gr. -0,005).

La glicirizzina . produce paralisi dell'apparecchio di arresto intracardiaco. Infatti se in una rana intossicata con glicirizzina si eccita il limite tra seno venoso ed orecchietta con una corrente indotta, dapprima si ottiene arresto del cuore, poi, quando l'avvelenamento è più progredito, questo non si avvera più.

Nel cane la glicirizzina per iniezione endovenosa dapprima aumenta la frequenza cardiaca, a questa segue una diminuzione progressiva sino all'arresto del cuore in diastole. La pressione san-

guigna non aumenta, ma si abbassa sempre progressivamente dal principio alla fine.

Gli stessi fatti si ottengono negli animali atropinizzati.

Riporto una esperienza.

Esp. VII. — Cane m. Kg. 9,500.

Animale fissato all'apparecchio di contenzione. Carotide d. in connessione con un manometro a Hg. e penna scrivente su cilindro affumicato girevole. Preparo la v.g.d. per iniettarvi il veleno.

Dal tracciato rilevo.

Periodi di osservazione	Pulsaz. cardiache media per m.	Pressione in m/m
9,25–9,30	148	160
9,30–9,40 Inietto gr. 4,50 di glicirizzina in 40 cm³ lentamente (2 cm³ ogni 1′)	170	132
9,40–9,45	120	102
9,45–9,50	66	94

Si scioglie l'animale che posto a terra resta immobile sopra un fianco. Il numero delle pulsazioni diminuisce sempre più e prima che muoia alle 17 si contano 50 pulsazioni per 1'.



Dal complesso dell'esperienze, che non riporto per brevità, si può dedurre che la glicirizzina agisce prima come depressivo poi come paralizzante degli apparecchi moderatori ed acceleratori del cuore e del miocardio stesso.

In un primo tempo prevale l'azione depressiva sugli apparecchi moderatori (vago) e il cuore aumenta di frequenza, in seguito l'azione depressiva si estende anche agli apparecchi acceleratori e conseguentemente si ha una diminuzione della frequenza del numero dei battiti che diventa sempre più rilevante sino alla paralisi del cuore.

Azione sui nervi di senso e di moto.

Nervi di moto. — Nel riferire le esperienze sull'azione generale ho riferito che con la stimolazione elettrica del moncone periferico dello sciatico ottenevo, sebbene poco energica, la contrazione dei muscoli della zampa corrispondente, i quali in seguito non reagivano

più. Mi restava quindi di assodare se il fatto dovesse attribuirsi ad un'azione paralizzante della glicirizzina sul nervo, sulle terminazioni nervose intramuscolari o sul muscolo.

Per studiare su quali elementi anatomici il farmaco agisce ho fatto due preparati gastronemio-sciatico di rana e li disposi, come nelle classiche esperienze di Bernard per il curaro, in due vetrini. Nel vetrino contenente il muscolo versai una soluzione di glicirizzina al quattro per cento, nell'altro contenente il nervo soluzione fisiologica, viceversa feci sull'altro preparato nervo-muscolare.

Vidi cosí che il muscolo immerso nella soluzione di glicirizzina perdeva rapidamente la propriétà di contrarsi, sia stimolato direttamente che stimolando il nervo, ed era necessaria una corrente indotta sempre più forte per ottenere una risposta, sinchè dopo 30′ era ineccitabile.

Il muscolo invece immerso in soluzione fisiologica manteneva integra la sua eccitabilità, il nervo immerso in soluzione di farmaco diventava rapidamente ineccitabile e per avere una contrazione del muscolo era necessario uno stimolo sempre più forte, sinchè dopo 40′ il nervo era ineccitabile mentre il muscolo conservava integro il potere di contrarsi.

Ho ripetuto queste esperienze varie volte con dispositivo un pò diverso, per es : sospendendo verticalmente i preparati nervo-muscolo in modo che in uno pescasse il nervo nella soluzione del farmaco nell'altro il muscolo. I risultati furono identici.

* * *

Da tali esperienze risulta che *la glicirizzina ha azione prima depressiva poi paralizzante non solo sui nervi di moto ma anche sui muscoli* come riferirò diffusamente nel Cap. « Azione sui muscoli » di un altra nota che ho in corso.

Nervi di senso. — Per fare queste ricerche recisi il midollo al di sotto del bulbo ad un paio di grosse rane e dopo 6 ore isolai ad entrambe un nervo sciatico che tagliai in basso unito al gastronemio.

Eccitando il moncone centrale le rane sollevavano l'arto inferiore opposto.

Sospesi le rane in modo che, rimanendo esse volte in alto, il loro nervo sciatico, mantenuto disteso dal peso del gastronemio, pescasse per una in soluzione di glicirizzina al quattro per cento, per l'altra in soluzione fisiologica. Ad eguali intervalli di tempo eccitavo elettricamente il nervo ed osservavo se avveniva il sollevamente dell'arto opposto, il nervo immerso nella soluzione di glicirizzina rapidamente diventava ineccitabile sinchè, dopo circa cinquanta primi, non ottenevo più alcuna reazione dell'arto opposto mentre nell'altra rana il nervo immerso in soluzione fisiologica diventava ineccitabile dopo circa 120′.

Azione sulla sensibilità gustativa

E' noto che la liquorizia ha il potere di mascherare alcuni sapori disgustosi e l'amaro. Non risultandomi che alcuno si sia occupato di dare dati numerici sperimentali sull'argomento, ho fatto delle ricerche in proposito, seguendo la tecnica di Gardella, limitate al solo sapore amaro (cloridrato di chinina) che riassumo nella tabella seguente

Individui sesso-età	Soglia normale ‰	Durata applicazione di sol. al 4 % di glicirizzina	Soglia dopo l'applicazione ‰	L'amaro diventa nauseante ‰
L. T. maschio 39	0,004	2′	1,00	4,50
R. V. » 22	0,005	2′	0,90	4
S. G. » 42	0,004	2′	0,80	4
L. T. s. detto	0,004	5′	1,50	5
R. V. idem	0,005	5′	1,20	4,50
S. G. idem	0,004	5′	1,40	4,75

* * *

La glicirizzina quindi ha azione depressiva sui nervi di senso e sulle terminazioni nervose gustative.

CONCLUSIONI

1°) L'estratto di radice di liquorizia, la glicirizzina de me preparata, il glicirizzinato di NH^4, sono letali per i comuni animali da esperimento ai quali vengono somministrati per le vie artificiali di assorbimento. La morte avviene con fenomeni di forte depressione generale specialmente a carico del cuore e del sistema nervoso centrale.

2°) La glicirizzina applicata a piccolissime dosi sul midollo spinale, o iniettata nel canale rachideo, porta a morte gli animali determinando in primo tempo depressione della sensibilità e paresi, in seguito paraplegia completa e abolizione della sensibilità.

3°) Applicata sul cervello a piccole dosi, e tali che per iniezione endovenosa sarebbero innocue, provoca gravi fenomeni di depressione,

abolizione della sensibilità dolorifica e in seguito conduce a morte gli animali.

4°) Agisce prima come depressivo poi come paralizzante degli apparecchi moderatori ed acceleratori del cuore e del miocardio stesso.

5°) Ha azione prima depressiva poi paralizzante sui nervi di moto e sui muscoli.

6°) Deprime i nervi di senso e le terminazioni nervose gustative.

BIBLIOGRAFIA.

La bibliografia sarà data per esteso nell'ultima nota.

FROM THE PHYSIOLOGICAL LABORATORY S. KENSINGTON
DIRECTOR : PROFESSOR A. D. WALLER.

Experiments with pilocarpine.

BY

W. BURRIDGE M.A., M.B.

LANGLEY (4) found a similarity between the effects obtained from pilocarpine and vagal stimulation on mammalian blood pressure and the frog's heart and suggested an identity of cause. RINGER'S experiments (7) placed the drug's seat of action in the muscle and now it is generally held to stimulate the myoneural junctions particularly of the cranio-sacral autonomic but also of the sympathetic nerves in certain organs they only innervate. MATHEWS (6), however, found the drug accelerated larval growth and suggested its action to be on the gland cells (cf. LANGLEY (5)).

The present experiments have been performed on the hearts of Rana Temporaria perfused in situ through the inferior vena cava with a variety of solutions. They show that pilocarpine exerts two groups of actions on the heart the one corresponding to those obtained from stimulation of the vagus, the other corresponding to sympathetic stimulation. Since simultaneous excitation of the vagus and sympathetic nerves to the heart gives a « vagus effect » previous findings that this drug reproduced vagus stimulation do not rule out a concurrent sympathetic stimulation.

Method of dilution.

The stock solution held 1 % of pilocarpine hydrochloride in isotonic saline. A series of bearkers was than taken and 20 cc of the RINGER to be used for the experiment measured into each of them. Transfer of solution was made by a 1 cc pipette graduated in hundredths. This was first washed with distilled water and then washed through three times with the solution to be transferred each portion of washing liquid being thrown away, 0.2 cc of the solution in the first breaker was transferred to the second after which the solution in the latter was considered to hold 1/100 of the drug in its predecessor. Corresponding washings were performed before transferring fluid from the second to the third breaker and so on.

In all tracings an interval representing 20 to 30 seconds exists between the point marking commencement of drug perfusion and the subsequent appearance of pharmacological action. This delay is due to the new solution requiring to replace fluid already present in the cannula and heart before it can itself exert its cardiac effects and is of practical value because the effects of perfusion pressure differences, if any, are thereby separated from those due to pharmacological causes. Preliminary experiments were always performed to adjust the pressures, and, as shown by the smoothness of change from one solution to another, such was practically attained when the heart beat well. But so sensitive to pressure changes are the auricles of the failing heart perfused with a low Ca solution that adjustment is no longer possible for even the « constancy » obtained through the reservoir being an inverted flask with its neck dipping under the surface of the flowing perfusing fluid (Marriotte) gives variations of one or two millimeters each time a bubble ascends and such affect the tracings as waves (2). Moreover, that which is practical equality when the heart beats well can appear, as in Fig. 1., as inequality when the beat is feeble.

Results.

Pilocarpine stimulates the heart before depressing when the calcium of the perfusing solution is low *(Fig. 1)*.

The strength of pilocarpine hydrochloride used for the experi-

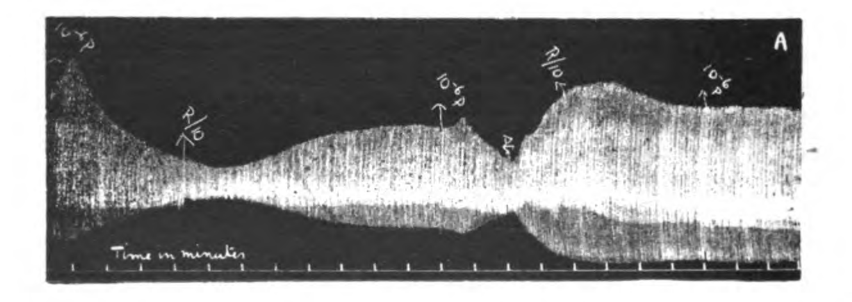


FIG. 1.A. — Composition of Ringer 0.6 % NaCl, 0.03 % KCl, 0.01 % $NaHCO_3$, 0.0025 % $CaCl_2$.

= R/10

At ↗ 10^{-6}p one part pilocarpine hydrochloride in one million parts of the RINGER began to be perfused.

At ↗ R/10 — Ringer alone re-perfused.

At ' Atr ' — atropine introduced into cannula.

Time in minutes in this and all other tracings.

ments recorded in tracing A was one in one million and after the drug had produced its effects the heart did not recover completely

therefrom when the RINGER alone was reperfused. This did not interfere, however, with a repetition of the pilocarpine effects on again perfusing the drug. After this repetition a drop of 1 % atropine sulphate solution was placed in the cannula, perfusion being interrupted for this purpose, and effected removal of the whole depression including that outstanding from the first perfusion as well as leaving the heart temporarily resistant to both the augmentation and depression from further pilocarpine.

These experiments lasted over twenty minutes and the heart beat as well at their end as at their start whereas the beats of hearts perfused for the same length of time with the RINGER alone were greatly enfeebled. This preservation of the hearts action-capacity by pilocarpine is shown better in tracing B where the recorded expe-

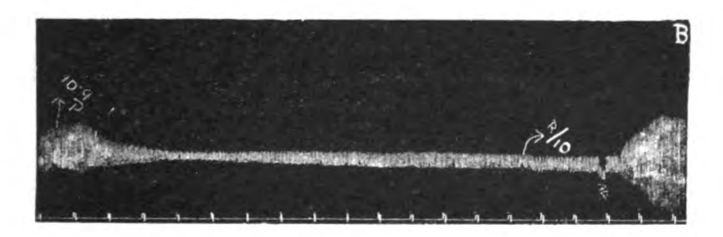


FIG. 1.B. — At↗ 10^{-9}p one part pilocarpine hydrochloride in one thousand millions of Ringer began to be perfused.
Remaining notations as in Fig. 1.A.

riments are begun on a heart in the last stages of failure, the waves (2) on the left indicating that the auricles had ceased active contraction. A much weaker pilocarpine solution was used (one in one thousand millions) and produced the primary stimulation followed by depression noted above but on this occasion its perfusion was carried on much longer than before. Two extra effects are to be noted ; (1) the contractions increase slightly in height ; (2) the waves disappear thus showing a return of auricular tone. No change occurred when now the RINGER alone was perfused for 2 ½ minutes but a drop of the atropine solution immediately effected recovery and the heart beat better than before. As judged by controls this heart had about five minutes activity left to it when these experiments were begun and atropine did not recuperate, so that the recuperative action of the pilocarpine even at that small concentration was marked.

The depressing action of pilocarpine in this RINGER was negligeable when dilution had reached one part in ten thousand millions or thereabout but the stimulation remained and was still present

when the dilution was carried to one part in a billion. Examples are shown in the accompanying tracings (*Fig. 2).*

The perfusing solution used for the experiments already recorded would not be conventionally described as good because its calcium content is so low that it will only keep a heart recordably active for

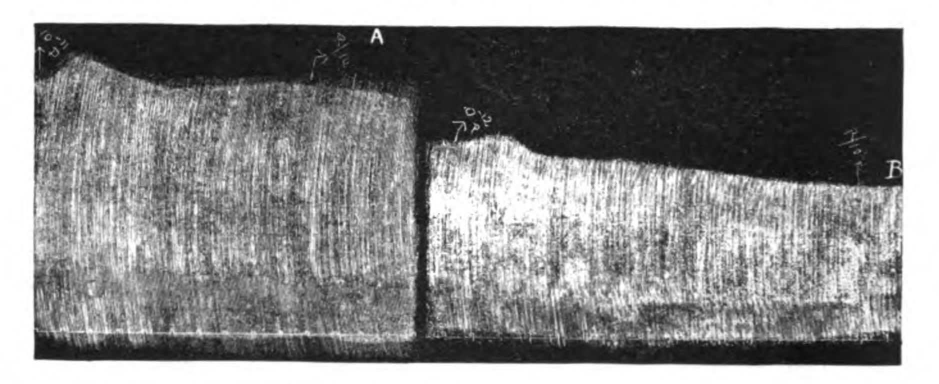


FIG. 2.A. & B. — Notation as in Fig. 1.
At↑ 10^{-11}p one part pilocarpine hydrochloride in one hundred thousand millions of Ringer began to be perfused.
At↑ 10^{-12}p one part pilocarpine hydrochloride in one billion of RINGER.

twenty to thirty minutes. The actions of pilocarpine shown through this solution stand out in contrast with those obtained from a solution of higher calcium content and capable of maintaining a heart active much longer (*Fig.* 3.)

There was no primary stimulation and the depressions produced

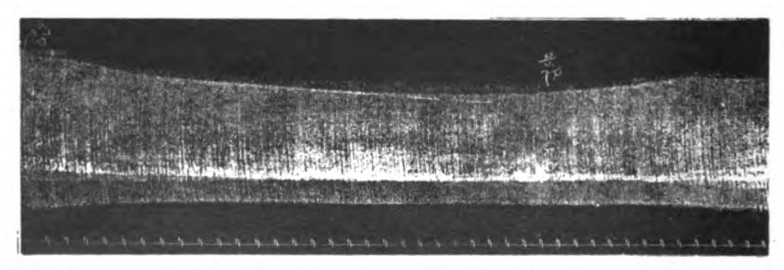


FIG. 3. — Composition of perfusing solution differs from that used for Figures 1 & 2 in having 0.01 % $CaCl_2$. = 2/5R.

by equal strengths of drug were much less. Both these pilocarpine effects, therefore, are antagonised by calcium. The primary stimulation, however, is physiological for the drug raises intraocular tension before lowering same, and BRODIE and DIXON (1) noted it produced quite commonly an initial and well defined dilation of bronchioles before constricting them. Since I obtain a physiological result with

the one solution which is not obtained with the other it follows that the ability to maintain a heart active longest does not connote a corresponding excellence to be the vehicle for ascertaining the actions of drugs.

The differences obtained from the two kinds of solutions, however, are quantitative rather than qualitative and the tracings of the next figure show that pilocarpine can stimulate when perfused in solutions of higher calcium content but that the stimulating effects are repressed by the depression. (*Fig.* 4).

The pilocarpine depressed the beats to a nearly constant level in both experiments and when then the RINGER alone was reperfused

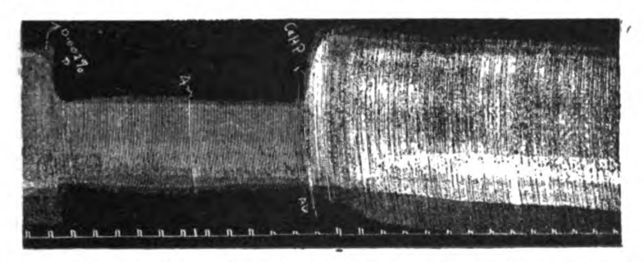


FIG. 4.A. — Composition of perfusing solution 0.6 % NaCl, 0.03 % KCl and saturated with the dibasic phosphate of calcium.
= CaHP
0.002 % P gives percentage of pilocarpine hydrochloride.
4^m = interval of four minutes.
Atr = introduction of atropine.

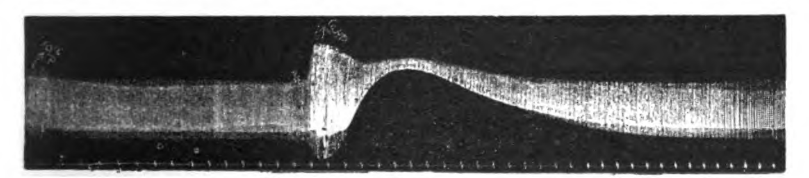


FIG. 4.B. — Notation asabove.
At↗ 10^{-6}p one part pilocarpine in one million of Ringer began to be perfused.

the heart slowly recovered taking some 15 to 20 minutes to reach the status quo ante. But here atropine was first used and RINGER reperfused shortly or immediately after and the hearts were not only freed from all depression but also entered into a state of exalted activity manifested as; (1) augmentation; (2) acceleration and; (3) tone. Augmentation after pilocarpine and atropine is also shown in *Fig.* 1.

Augmentation, acceleration and tone are sympathetic effects so that pilocarpine is here responsible for sympathetic stimulation and in dealing with its causation we note that simultaneous excitation of vagus and sympathetic nerves gives vagus effects during stimula-

tion and is followed by sympathetic effects on cessation. Such is the order of the effects above and it indicates that pilocarpine was previously exciting both vagus and sympathetic nerve endings. But as opposed to nerve effects those of pilocarpine are produced through its combination with the heart-muscle and the resulting pilocarpine-heart-muscle compound must be reversed before its effects can be reversed.

In a previous paper (3) the existence of two modes of excitability change, the « rapid » and « hysteresial », was demonstrated and the action of the vagus nerve shown above is « rapid » both in onset and removal whereas that of sympathetic nervers is hysteresial. The atropine destroyed this pilocarpine compound and so stopped its actions. The effects previously produced by the pilocarpine then began to reverse but at different rates. That of the vagus reversed rapidly but the sympathetic effect being hysteresial subsided in its own time. As a result while all depression was rapidly removed the heart thereafter remained hyperactive until the sympathetic effect had subsided.

The slow reversal on RINGER does not favour production of these two definite group of effects because to the integration of small increments due to gradual vagus reversal there is opposed the integration of the corresponding subsiding hysteresial change. The best to be expected was a return to temporarily slightly increased height of contraction and such was observed.

An experiment corresponding to those above but using drenalina instead of atropine is illustrated in the next tracing *(Fig, 5)*.

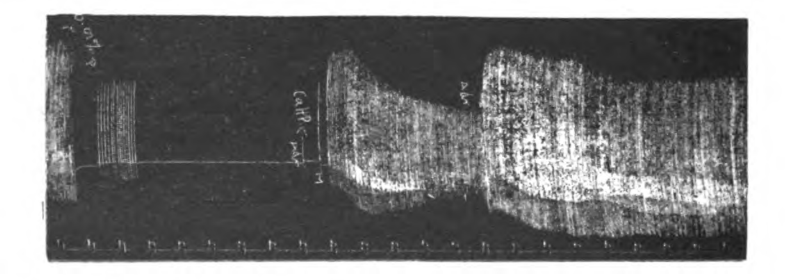


FIG. 5. — Notation as in Figure 4.
At' Adr.' one drop adrenalin placed in cannula.
M = accidental movement of apparatus.

The rate of recovery seen on the extreme right was the same as that observed when RINGER alone replaced pilocarpine solution ; and the production of such adrenalin augmentations as are shown was not found to have any effect on the time taken by the heart to beat well « on its own » again. The absence of any accelerating effect on the rate of recovery by these adrenalin augmentations stands

out in marked contrast with the accelerating effect of the augmentation of a temporary Ca increase on the rate of recovery after a cocaine (9) or morphine depression. The adrenalin though it enables the heart depressed by pcliearpine to beat better does not remove anything of the actual pilocrapine depression. Accordingly I conclude, using the phraseology of previous work, that the vagus and sympathetic nerves are indirect antagonists (3).

The heart depressed by pilocarpine contracts fully on exposure to a 5 % solution of KCl from which I conclude that its depressing action is not the result of any action on contractile substance.

Remarks.

The slow reversal of the pilocarpine effects on RINGER alone shows they are mediated through the formation of some fairly stable pilocarpine-heart-muscle compound capable, however, of rapid decomposition by atropine and of which from the KCl experiment contractile substance is not a component. But once the compound is formed two groups of effects follow ; (1) a depression capable of rapid onset and removal ; (2) an augmentation showing hysteresis in its subsidence. Turning next to previous work we note that two such groups of effects are the different modes of activity, mediated by adsorption reactions and by changes of aggregation respectively, which every excitable substance can show and since as produced by pilocarpine the two groups of effects correspond to those obtained by stimulation of vagus and sympathetic nerves respectively we deduce each of these nerves elicits one of the two sides of activity of a single excitable substance. These nerves are, thus, indirect antagonists through producing to opposite ends the two modes of excitability change of which the single non-contractile excitable substance is capable.

Previous experiments with adrenalin (3) showed that sympathetic nerves produce a hysteresial augmentation and the present ones show that the vagus nerve evokes the other mode of activity of the same excitable structure which mediates sympathetic effects and that through diminishing its capacity to react with calcium.

This excitable structure also conducts (c. f. TAIT (9)) and is evidently placed between the nerves and the contractile substance. Different nerves, however, conduct similarly so that some transformer is required at the end of the nerve to make similar impulses in the one case inhibitory and in the other case augmentor. I suggest that some drugs act on these transformers (myoneural junctions?) and others such as pilocarpine on the excitable structure. Placing the seat of pilocarpine on the latter is consonant with MATHEW'S results (6) for the excitable structure is part of the muscle cell and probably its sarcoplasm (9).

These two groups of effects produced by pilocarpine through its action on the excitable structure give scope for errors in attempting to prophesy its action in any one animal from experiments done on another. We might rightly argue that it should act on the excitable structure in other tissues but as this structure can produce two groups of independent effects and does so under the influence of pilocarpine we cannot say what is going to happen until we know the balance between the two groups of opposite effects produced by our strength of drug. BRODIE and DIXON's results (1), for example, contraindicate the use of pilocarpine in asthma. Yet at one time it was a remedy for this complaint and presumably those who employed it must have got good thereby. I suggest the primary bronchiolar dilatation observed by BRODIE and DIXON is something capable of isolation just as the primary cardiac augmentation above. It seems unlikely that the clinicians were wholly wrong but rather possible that those who used the drug in small doses got dilatation while those who pushed the drug did not thereby obtain greater dilatation but instead an effect opposite to that desired.

SUMMARY AND CONCLUSIONS.

1. Pilocarpine both stimulates and depresses the frog's heart.
2. Both effects are antagonised by calcium.
3. Atropine prevents pilocarpine exerting either stimulation or depression but pilocarpine having been first allowed to act and produce its effects subsequent atropine only removes the depression. The augmentor effects thereafter subside in their own time.
4. It is suggested that pilocarpine acts on an excitable conducting substance (the sarcoplasm) situated between the myoneural junction and the contractile substance.
5. The vagus nerve diminishes the capacity of this excitable substance to form its normal combinations with calcium.
6. Sympathetic nerves alter the state of aggregation of its colloids.
7. Ability to keep a heart active longest does not connote a corresponding superiority of a perfusing solution to be the medium for examining the actions of drugs on the heart.

REFERENCES.

1. BRODIE & DIXON. — *Journ. of Physiol.*, XXIX, 97, 1903.
2. BURRIDGE. — *Ibid.*, LIII, *Proc. Physiol. Soc.*, LIX, 1920.
3. BURRIDGE. — *This Journal*, XXVII, 243. 1922.
4. LANGLEY. — *Journ. Anat. and Physiol.*, X, 187, 1875 6.
5. LANGLEY — *Journ. of Physiol.*, LVI, 110, 1922.
6. MATHEWS. — *Amer. Journ. of Physiol.*, VI, 207, 1902.
7. RINGER. — *Practitioner*, XXVI, 5, 1881.
8. TAIT. — *Quart. Journ. Exp. Physiol.*, III, 185, 1910.
9. BURRIDGE. — *This Journal*, XXVI, 115, 1921.

FROM THE PHYSIOLOGICAL LABORATORY, S. KENSINGTON.
DIRECTOR : PROFESSOR A. D. WALLER.

Experiments with uranium

BY

W. BURRIDGE M.A., M.B.

ZWAARDEMAKER (7) (8) found the substitution of potassium by uranium in radio-active equivalence in RINGER's solution did not disturb the activity of the frog's heart. CLARK (5) was unable to confirm this and PETERS (6) found that uranium could not replace potassium in the growth process.

The present experiments have been carried out on the heart of Rana Temporaria perfused as already described (2)... All solutions contained 0.6 p. c. NaCl, 0.03 p. c. KCl, 0.01 p. c. $NaHCO_4$ and varying Ca.

Results.

When Calcium is low, very small amounts of uranium stimulate the heart *(Fig. 1)*.

The figure shows stimulation by one part uranium in one hundred millions but one-tenth that strength also sufficed. The RINGER used

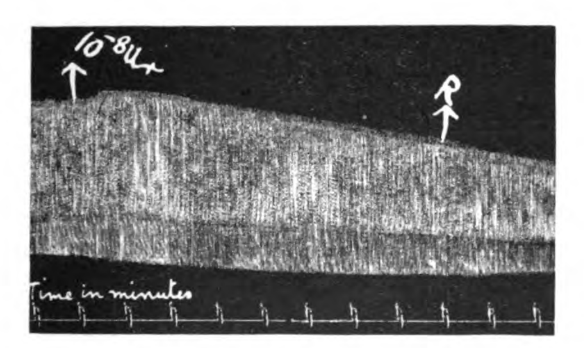


FIG. 1. — Ca content of perfusing solution 0.0025 p.c. $CaCl_2$.
At↑ 10^{-8} Ur the Ringer with one part uranium nitrate in one hundred millions began to be perfused.
At↑ R Ringer alone re-perfused.

does not maintain the frog's heart active long but failure on it did not affect the uranium augmentation. Stronger solutions of uranium (10^{-5} or 10^{-6}), however, greatly prolonged the period during which

the heart remained active on this perfusing solution, as least a threefold extension being made possible an effect shown incidentally in figure 3, below.

The beneficial effect of stronger solutions of uranium also persists on the following RINGER *(Fig. 2)*.

The first experiment was done on the freshly perfused heart and the second on one already perfused for four hours. The exposures to uranium were brief and depression was preceded by augmentation when Ca was low. The common after-effect was a great augmentation

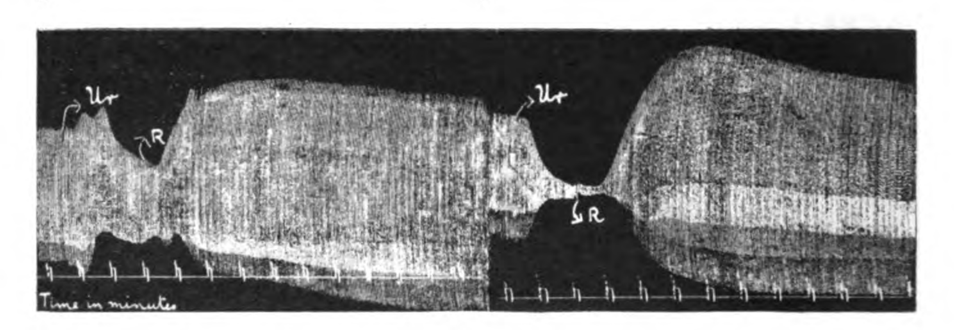


FIG. 2 A & B. — Strenght of uranium 1 in 10,000.
Ca content of perfusing solution of tracing A. 0.0025 p.c. $CaCl_2$.
» » » » » » B. 0.01 p.c. $CaCl_2$.

which persisted for about 20 minutes. Since a similar exposure to adrenalin produced no greater effect uranium is a strong cardiac stimulant.

Uranium reinforces the stimulating action of calcium.

Uranium perfused in a Ca-free solution is without visible action but a following RINGER containing insufficient Ca for tone previously may then produce marked tone, or a previously insufficient amount of Ca now evoke strong contractions .Uranium does not then stimulate of itself but does something to the heart whereoy the latter reacts more vigorously to Ca (cf. Sodium (3)).

Calcium and uranium also mutual antagonists.

A mutual antagonism between Ur and Ca is illustrated by figg. 3 and 4

One part uranium chloride in ten thousand of the RINGER was perfused in each case and produced full tone in fig. 3 but halftone in fig. 4. As once Ur has produced its cardiac change Ca builds tone on it in amounts roughly proportional to their respective strenghts such underlying cardiac change must have been 8 times greater in

the experiment of fig. 3 than in that of fig. 4, because the solution used in the latter though it contained 4 times the Ca of the former yet only produced half the tone.

At the second arrow in fig. 3, RINGER was temporarily reperfused and as no augmentation was produced thereby it was concluded that the augmentation had wiped out the depression and so that the two effects were mediated in one mechanism (c. f. BURRIDGE) (3). But on resuming the Ur solution it was noted that imperfect ventricular relaxation was retarding perfusion to such an extent as to probably produce auto-intoxication... Accordingly the perfusion pressure was raised and systole followed the restoration of fluid flow.

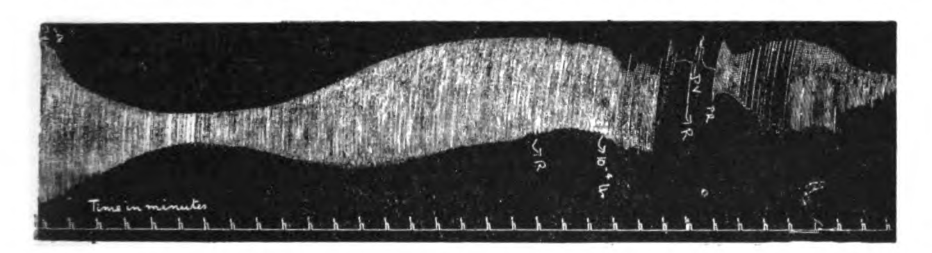


FIG. 3. — Ca content of perfusing solution 0.0025 p.c. $CaCl_2$.

↗ 10^{-4} Ur = commencement of perfusion of one part uranium nitrate in ten thousand of Ringer.

At ↗ R Ringer alone re-perfused.

P.V. = notching of tracing through perfusion pressure variation.

P.R. = continued perfusion at high pressure.

The subsequent relaxation on similar high-pressure RINGER shows the pressure did not produce the contracture.

Only the early stages of relaxation are shown in fig. 3, an additional half-hour elapsing before the status quo ante was reached. Fig. 4 shows more of the relaxation and a beneficial action of potassium phosphate.

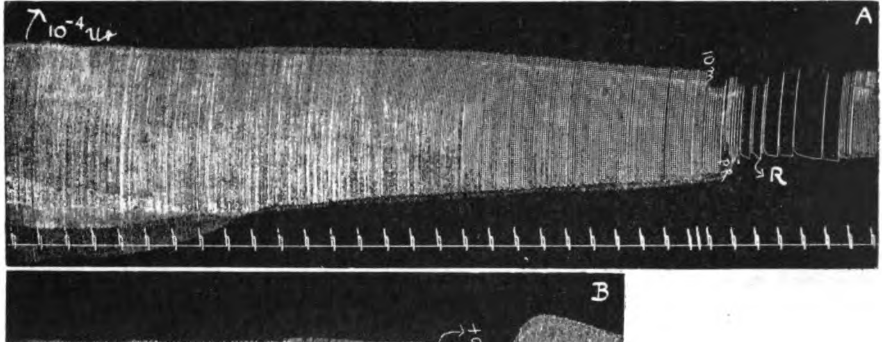
The antagonism exemplified in these tracings is an antagonism by calcium of the production by uranium of the underlying cardiac change whereby other actions of Ca were favoured. This combination of antagonism and reinforcement may be called the urano-calcium paradox and is similar to others previously described. ZWAARDEMAKER also noted a urano-calcium antagonism (7) (8) but we find two and a reinforcement so that the relations between the two elements are more complex than he states.

Remarks.

The perfused heart's loss of excitability was shown previously to be due to loss of K salts produced though the coagulative action

of Ca (4). Ur antagonised this coagulative-Ca-action and such carried to extremes would prevent Ca coagulating at all and ipso facto exciting. Hence the Ur-depression and its merging into and out of augmentation.

I suggest that the significance of ZWAARDEMAKER'S results is that radio-activity both keeps the cardiac machine together and favours the colloidal adsorption of potassium. Uranium in ZWAARDEMAKERS'S (7) (8) and CLARK'S (5) experiments did not become a working part of the cardiac machine i. e. Ur did not biologically



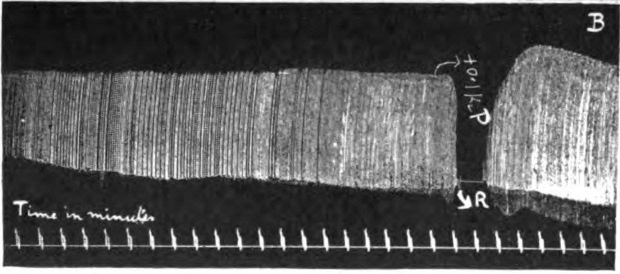


FIG. 4. A & B. — Ca content of perfusing solution = 0.01 p.c. $CaCl_2$
At↗ 10^{-4} Ur one part uranium nitrate in then thousand of Ringer began to be perfused.
10 m. = interval of 10 minutes.
P.R. = perfusion pressure raised.
+ 0.1 K_2P = perfusion of Ringer with 0.1 p.c. K_2HPO_4 added.
Tracing B. is the direct continuation of A.

replace K (PETERS (6)), but bound the normal parts together and enabled the heart to keep its potassium.

I have shown earlier that potassium phosphate (4) has a capacity to bolt and keep the working parts of the cardiac machine together distinct from its action on excitability and these experiments with uranium indicate that radio-activity is the additional quality possessed by potassium enabling it to do so. The high potassium content of blood (1) and its content of ductless gland hormone (1) could thus develop pari passu as synergists to the maintenance of action capacity.

Summary.

1. Uranium stimulates and depresses the frog's heart, the two actions merging into one another.

2. Both actions are antagonised by calcium.

3. The stimulating action of uranium is not exerted per se but reinforces the stimulating action of calcium. There is, thus, a urano-calcium paradox.

In conclusion I wish to express my indebtedness to the late Professor WALLER for facilities and friendly criticism.

REFERENCES

1. BURRIDGE. — *Quart. Journ. of Med.*, X, 163, 1917.
2. BURRIDGE. — *This Journal*, XXVI, 19, 21.
3. BURRIDGE. — *Ibid.*, XXVII, 213, 1922.
4. BURRIDGE. — *Ibid.* XXVIII, 37, 1923.
5. CLARK. — *Journ. of Physiol.*, LIV, Proc. Physiol. Soc., xv, 1920.
6. PETERS. — *Ibid.*, LV, 1, 1921.
7. ZWAARDEMAKER. — *Ibid.*, LIII, 273, 1920.
8. ZWAARDEMAKER. — *Ibid.*, LV, 33, 1921.

FROM THE PHYSIOLOGICAL LABORATORY SOUTH KENSINGTON
DIRECTOR: PROFESSOR A. D. WALLER.

Experiments on the actions of Ringer's solution on the heart

BY

W. BURRIDGE M.A., M.B.

ZUNZ (19) found the perfused heart became sensitized to drugs and ascribed the effects to the disintegration of an internal protecting membrane. CLARK's results (11) confirmed some of ZUNZ and indicated lipoid loss as a cause of the weakning after perfusion.

The present experiments have been performed on the hearts of Rana Temporaria perfused as already described (8), (9), (10). I find that after an inorganic fluid has been perfused for 24 hours the heart may beat better than before and accordingly seek some action of RINGER's solution different from those already suggested to account for the perfused heart's failure.

The perfusing media were chiefly derived from two stock solutions both containing 0.6 p. c. NaCl, 0.03 p. c. KCl, 0.01 p. c. $NaHCO_3$, but the one with 0.025 p. c. $CaCl_2$, the other calcium-free, 0.6 p. c. NaCl accords with FISCHER's criticisms (12).

Excitation fails first.

The contraction produced by a 5 p. c. KCl solution (1), (5), is not affected by the perfused heart's failure which must consequently be due to some failure of excitation, and not of ability of contractile material to contract.

Potassium recuperates.

This potassium solution also recuperates the failing perfused heart. *(Fig. 1)*.

The solution is shown in the first tracing to produce a strong contraction in a heart which had so far failed that a RINGER with 0.025 p. c. $CaCl_2$ produced only weak contractions. Then after its washing out the heart beat strongly again but irregularly. The irregular beats indicate attainment of the useful limit of potassium chloride. Usually this salt suffices for the average day, the heart

as it weakens being given the potassium as shown and then for the next half-hour or so beats well enough for confirmatory experiments with drugs etc. to be done. But the time always came, as above, when the subsequent activity was irregular. When that stage was reached a beneficial effect was obtained from potassium phosphate and such is shown in the second tracing. The beneficial action of potassium phosphate was specific. Thus, a heart's beats were 50 p. c. of their maximum size (6) when the RINGER was the one chiefly used above (0.025 p. c. $CaCl_2$), but diminished to 10 p. c. when the Ca was reduced to saturation with the dibasic phosphate, and their size was not changed after treatment with the dibasic phosphate of sodium (3 p. c.). But after potassium phosphate (5 p. c.) they

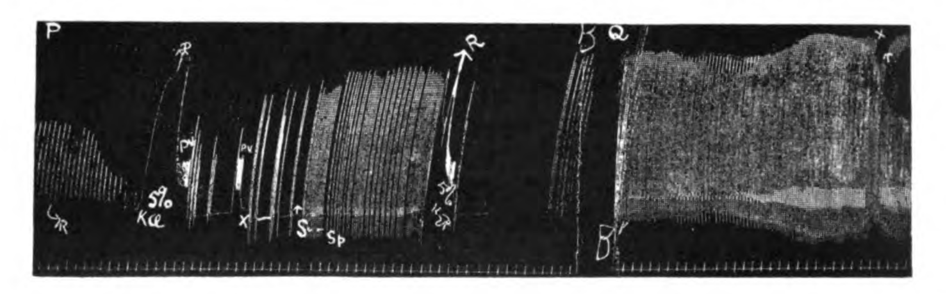


FIG. 1. P. — Composition of sulution used on extreme left 0.6 p.c. NaCl, 0.03 p.c. KCl, 0.01 p.c. $NaHCO_3$, 0.05 p.c. $CaCl_2$.
At ↗ R, Ca reduced to 0,025 p.c. $CaCl_2$.
At ↗ 5 % KCl — 5% KCl solution perfused.
At ↗ R, — KCl solution replaced by Ringer (0.025 p.c. $CaCl_2$).
P.V. notchings due to pumping.
Base of ventricle faradised between + and ↗
S..... contractions evoked by single induced shocks.
SP — spontaneous contraction.
5% K_2P — perfusion of 5% solution of K_2HPO_4.

FIG. 1.Q. — Is a continuation of Fig. 1.P.
Drum was lowered and B1 indicates continuation from B.
All times in minutes.

increased to 60 p. c. of their maximum from which they returned slowly in 20 minutes to their previous 10 p. c. size and remained constant for another 15 minutes when the potassium salt was used again. The beats then went to the 90 p. c. level and their failure on this occasion, just after it had begun, was reversed by adding a little potassium phosphate (0.035 p. c.) to the RINGER. Thereafter the heart beat constant for another 15 minutes when the concluding experiment was performed which showed that the original RINGER was interchangeable with the phosphate RINGER in respect of their capacities to maintain the beat, a feature of the fresh heart lost

as perfusion progressed. Since the phosphate of K gave effects not obtainable from its chloride or from the phosphates of Na and Ca, it exerted a specific action, and as both the chloride and phosphate of K recuperated, each has its own function. Moreover, since the tracings show an almost complete restoration of height and rhythm,

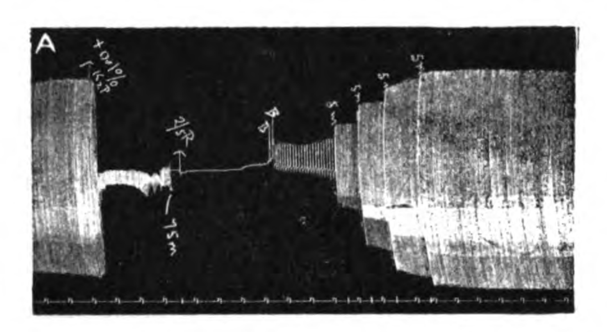


FIG. 2.A. — Composition of Ringer 0.6 p.c. NaCl, 0.03 p.c. KCl, 0.01 p.c. $NaHCO_3$, 0.01 p.c. $CaCl_2$ ≡ 2/5R.
At 0.1% K_2P, 0.1 p.c. K_2HPO_4 added to Ringer. (Slight Ca ppt.).
75^m = interval of 75 minutes.
2/5 R = re-perfusion of Ringer alone.
B = accidental displacements.
5^m etc. = interval of five minutes.

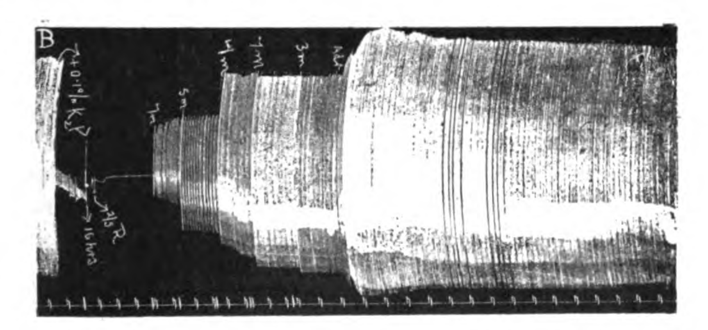


FIG. 2.B. — General notation as 2.A.
16hrs. = interval of 16 hours.
Adr. = placing of one drop adrenalin in Cannula.

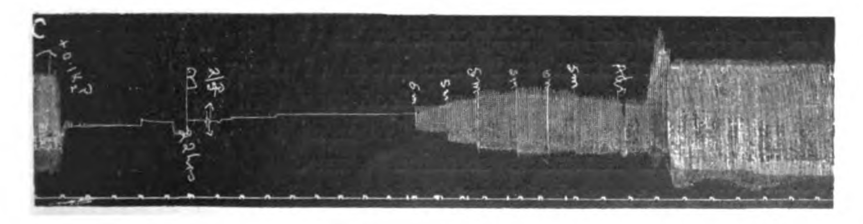


FIG. 2.C. — Notation as A & B.

so far as the working parts of the cardiac machine are concerned only K salts can be lost as perfusion proceeds. But as the machine thus reconstituted, though it may carry on so long as three days as a result of repeated such treatments yet does not hold together so well as the fresh heart, it would appear as if something having a binding action on the machine were also lost. Potassium phosphate, however, has also a preservative action. *(Fig. 2)*.

Enough K_2HPO_4 (0.1 p. c.) was added to a RINGER to produce diastolic arrest and the tracings record the solution's perfusion for 75 minutes and 16 and 22 hours respectively. The shortest perfusion was one frequently repeated for its utility since it enabled the experimenter to cease work temporarily and return to an also recuperated heart. The other tracings recorded overnight and a day's perfusion of this preservative solution in hearts previously perfused and used for experiments for about 8 hours, so that the beats on the right of the second tracing are those of a heart one day perfused while nearly one day elapses between the extremes of the third. RINGER alone, however, could not awaken the heart to full activity after prolonged rest and an extra-stimulus like adrenalin was required. But as the latter's augmentation normally begins to subside immediately after reaching its maximum (See fig. 4 below) whereas the improvements shown persisted for another two hours, while adrenalin gave the extra-stimulus the capacity for the improvement to continue must have been due to the phosphates.

100 c.c. of fluid per hour was perfused above so that little, if anything essential to activity would appear to be lost to the heart by perfusion of an inorgance solution during the first 24 hours (c. f. CLARK (11), SCHUCKING (18), ZUNZ(19)) except it be potassium phosphate. But though as a perfusing solution this one is hopelessly unbalanced yet through that lack of balance it acquires restorative and preservative properties such as are non-existent in a balanced RINGER for the latter never restores the heart exhausted on it and the conventionally best RINGER is the one on which the heart fails slowest. A trace of adrenalin (10^{-6}), however, enabled the heart to maintain practically unimpaired activity on this K-solution over an eight-hour period (7), so that with adrenalin at its service the normal heart could obtain the advantages of this solution without its defects. Further since faradisation (2) (7) shows that the muscle of the blood-containing heart is as loaded with potassium as that of the heart perfused with the above solution and that much of this potassium is lost directly after perfusion has begun, blood may well be an unbalanced solution of this type. The ideas of « balance » which we derive from experiments with RINGER'S solution cannot then be transferred direct to blood because the latter's content of ductless gland hormones can make its balance of a different order from that of RINGER'S solution.

Evidence concerning the phosphate was always obtained later than evidence concerning the chloride even when the RINGER contained phosphates so that the former must be lost to the heart later than the latter. That accords with our dealing with a colloidal system for much agricultural depends on phosphates not diffusing away while colloids offer adequate surface for adsorption. The perfused heart's colloids because it is dying are passing from the labile to the more stable coagulative state and hence with the consequent decrease of colloidal surface part of the K salts normally adsorbed thereon must diffuse away, the chloride before the phosphate.

Calcium impairs the perfused heart.

The newly perfused heart's quality of freshness enables it to react vigorously to Ca and to beat on a wide range of perfusing solutions though for varying times. Thus, on a RINGER containing 0.0025 p. c. $CaCl_2$ activity ceases in about a half-hour, but after that an increase to 0.005 p. c. $CaCl_2$ improves the beat and gives another hour's activity *(Fig. 3)*.

After failure on 0.005 p. c. $CaCl_2$ an increase to 0.01 p. c. $CaCl_2$ give another two hours' activity and so on, 0.025 p. c. $CaCl_2$ being

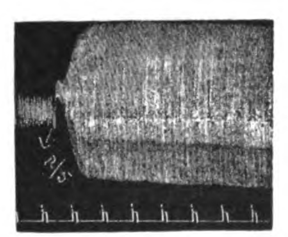


FIG. 3. — Ca of perfusing solution on left 0.0025 % $CaCl_2$.
At ↗ R/5 Ca increased to 0.005% $CaCl_2$.

reached after about 8 hours. Each such failure marked a definite decrease in the heart's field of response in that a pre-existing ability to beat on the first solution and others with less Ca was lost but a capacity to beat on the second solution and others with more Ca was retained. An increase of contraction height obtained though Ca while thus restorative to a pre-existing height of contraction is not restorative of the pre-existing quality of freshness. There is temporary compensation of a developed defect as by the whip on a tired horse.

But though a heart beat well on a solution containing 0.015 p. c. $CaCl_2$ half-an-hour after perfusion has begun it loses its capacity to beat well on that containing 0.005 p. c. $CaCl_2$ so that its field

of response undergoes greater decrease than that of the heart which completely fails on 0.0025 p. c. $CaCl_2$. Such differences increase with time for whereas hearts perfused throughout with the 0.015 p. c. $CaCl_2$ solution beat badly at the end of six hours, those perfused with solutions of gradually increasing Ca content then beat well on it. On a solution containing 0.15 p. c. $CaCl_2$ a marked decrease of the field of response is apparent in two minutes. Ca, thus, actively deprives the heart of that freshnes which is restored by K. Its capacity to coagulate certain muscle colloids in vitro and its coagulative action shown by HÖBER (20) in vivo sufficiently indicate its mode of action. But since OVERTON (16) has shown that Ca poisons by removing phosphates such action of Ca may well be additional to a removal of K indirectly through reduction of the surface available for adsorption.

Three groups of perfusing solutions.

Keeping Na & K constant, perfusing solutions made three groups according to their Ca viz : (1) those with more than 0.025 p. c. $CaCl_2$, (2) those with 0.01 p. c. to 0. 025 p. c. $CaCl_2$,(3) those with less than 0.01 p. c. $CaCl_2$. Solutions of the first group produced tone when they replaced blood 0.1 p. c. $CaCl_2$ sufficing for systolic arrest, those of the second group produced no definite changes of contraction height while on those of the third group the beats first rapidly decreased and then slowly increased their height again. On the third group solutions also the beats of the heart markedly differed in height according to the Ca whereas there was little to choose between the beats on one second group solution and another.

But I found that while Ca increase generally tended to increase the height of contraction the rate of such increase rapidly fell off after 80 % or the whole stock (6) of contractile material was activated. The results held good for both the fresh and hypodynamic heart. The practical sameness of contraction height in the fresh heart perfused with second group solutions is thus due to the beats reaching higher than the 80 % level, and the marked difference of height according to Ca in the fresh heart perfused with third group solutions or the hypodynamic heart perfused with those of the second group is due to such beats being below the 80 % level. CLARK's finding (11) that Ca increase produced little increase of contraction height in the fresh but markedly improved the hypodynamic heart, thus, appears conditioned by his use of second group solutions producing contractions higher than the 80 % level in the fresh and nearer the 40 % level in the hypodynamic heart.

Physical possibilities in augmentation are illustrated by the next tracing *(Fig. 4)*.

Here adrenalin produced from physiological causes an augmentation which is large from a physical cause for each heart having a definite maximum height of contraction, the beats can only increase in height up to that maximum, and as this start was made a long

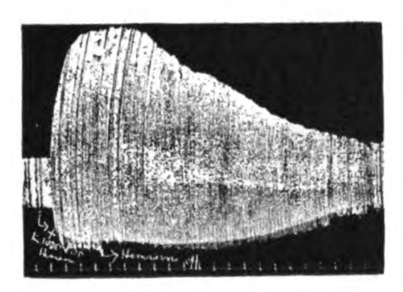


FIG. 4. — Ca of perfusing solution 0.0025 % $CaCl_2$.
At ↗ 1,000,000 that strength of hemisine added.
Hemisine off. = re-perfusion of Ringer alone.

way from the maximum the augmentation reaching to the latter was large. When the adrenalin is perfused through a heart already beating well the augmentation still reaches the maximum but the increase of size of beat is reduced the better the previous beats.

Since the fresh heart perfused with a second group solution, to which group most balanced RINGERS belong, beats above the 80 % level large increases of contraction are then physically impossible to it. But as the beats decrease in height with the progress of perfusion a correspondingly increased capacity to augment their size becomes possible because such decrement is not accompained by any corresponding loss of capacity of contractile material to contract. Consequently a substance augmenting excitability may produce a marked augmentation of contraction height in the hypodynamic heart and little in the fresh because of physical possibilities quite apart from physiological causes.

I find the watery and freshly prepared alcoholic extracts of many organs markedly augment the beats of the perfused heart provided; (1) the beats at the start are sufficiently small to make a large augmentation easily and physically possible; (2) the extract is weak enough *(Fig. 5.)*.

At V the extract in RINGER from dried ovarian substance began to be perfused and produced first a rapid depression and then a slow augmentation. At R the following RINGER reversed quantitatively the previous changes. From the equality of the two rapid changes, the equality of the two slow changes and the inequality

between slow and rapid changes it is deduced, as before, that slow and rapid changes are mediated by different mechanism.

Each change has its own independent rate of increase with increase of concentration that of depression being the faster so that eventually this latter becomes so much greater than augmentation that the heart remains arrested in diastole. Consequently weakness of the extract is one condition for augmentation (c. f. BURRIDGE(9)).

These results as well as those with potassium salts bear on CLARK'S hypothesis (11) that loss of lipoids is an important factor

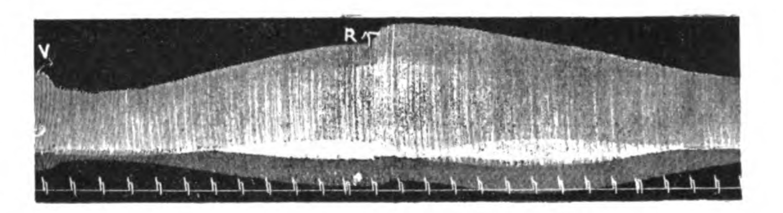


FIG. 5. — Composition of Ringer 0.6% NaCl, 0.03 % KCl, 0.01 % $NaHCO_3$, 00.025 % $CaCl_2$.

At ↗ V the solution obtained by boiling 0.4 gm. dried ovarian substance in 100 cc. of Ringer and then filtering and cooling began to be perfused.

At ↗ R — Ringer alone re-perfused.

determining the hypodynamic state. His tracings show that he obtained solutions of substances depressing before they augmented or else mixtures of depressors and augmentors, and the solutions were weak. The factors determining the hypodynamic state cannot be determined from his experiments until we have ascertained whether the augmentations be specific to the hypodynamic or common to the fresh and hypodynamic hearts given equal physical opportunities. I find the alcoholic extracts of organs markedly benefit the fresh heart also provided augmentation be made as possible to it as to the hypodynamic heart by choice of perfusing solution. Consequently I conclude that CLARK'S experiments (11) do not throw light on the nature of the hypodynamic state. The conclusion leaves a gap in my own work which while revealing the working parts of the cardiac machine yet requires bolts and screws as it were, to keep those working parts together and lipoids would have supplied part, at least of the deficiency.

An effect of faradisation.

The fresh heart perfused with a low calcium solution behaves to faradisation similarly to a heart perfused with a second group solution with added sodium in that after faradisation a marked

though temporary increase of contraction height follows. Such effects are shown in the figure and should be compared with those of figure I above *(Fig. 6)*.

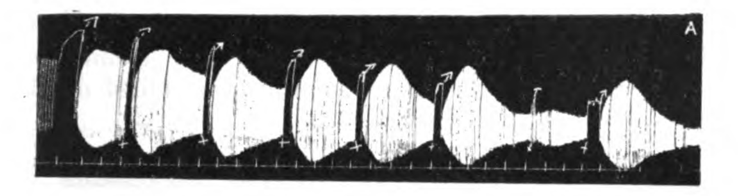


FIG. 6.A. — Ca content of perfusing solution 0.0025 p.c. $CaCl_2$.

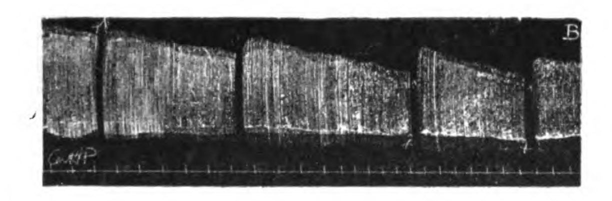


FIG. 6.B. — Composition of perfusing solution 1.4 p.c. NaCl, 0.03 p.c. KCl and saturated with the dibasic phosphate of calcium.

Base of ventricle faradised between marks + and ↗

An oxidation effect.

The heart perfused with a third group solution and failing was greatly improved by sending air or oxygen through it instead of the RINGER *(Fig. 7)*.

The improvement shown was also obtainable in solutions with normal Ca but hypernormal Na. The experiments confirm LINGLE'S observation(13) of an asphyxial sodium action and MARTIN'S (15) of a beneficial action of Ca on oxidation and indicate that RINGER(17) found no benefit from O_2 because he used enough Ca.

The tracing shows also the more lasting benefit obtained by replacing part of the NaCl by cane sugar. Such replacement always augmented but the augmentation was not necessarily accompanied by improvement (c. f. CLARK (11)). The end-result depended on balance. 0.6 p. c. NaCl approximately balances 0.01 p. c. $CaCl_2$. The replacement of NaCl by cane sugar in a solution with more Ca than this emphasised an existing overaction of Ca and the augmentation was accompanied by marked loss of freshness just as happened when the Ca of a perfusing solution was increased, whereas when the solution above was used replacement of half the NaCl by its isotonic equivalent of cane sugar prolonged activity on the low Ca solution so much as threefold and so conserved freshness.

The interest of this last series of observations is that after Ca reduction, increased action of Na only is found so that Na and Ca have antagonistic functions in RINGER wherein the part played by K if any, is minor.

These experiments with low Ca solutions have also a bearing on previous work (8) (9) (10). In connection with aconite (10), for example, the statement was made that the heart failed on the low

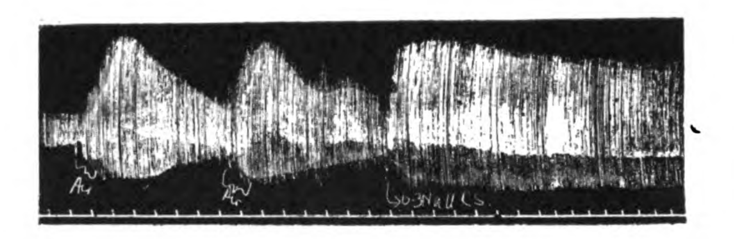


FIG. 7. — Ca content of perfusing solution 0.0025 p.c. $CaCl_2$.
At ' Air ' Air perlused through heart.
At ↗ 0.3 NaClCS 0.3 p.c. NaCl replaced by the isotonic equivalent of cane sugar.

Ca solution because of overaction of Na but the evidence supporting same had to be left to the present occasion.

It would appear also from these experiments that there are two factors in oxidation: (1) an adsorption change mediated through Ca : (2) an aggregation change.

Remarks.

Calcium, the cardiac exciter, must as part and parcel of its exciting action make the heart inexcitable (refractory), so that in absence of evidence that it has two ways of reducing excitability, these observations on the perfused heart's failure apply to the excitation process. Excitation emerges from them as a coagulative colloidal change produced by Ca and the one electric charge whereby previously adsorbed K salts are thrown into watery solution. The prolongation of the refractory period by phosphates (3), the results above and those of OVERTON (16) indicate some combination between Ca and phosphates as a factor in the coagulative change.

From previous work (1) (5) KCl is the salt freed and it then evokes contraction by concentrating at semi-permeable membranes surrounding the contractile material(1) (5). It should, thus, also ; (1) as an end-product of the excitation reaction depress excitability ;(2) reproduce when in high concentration the effects of a full excitation

irrespective of the latter's actual efficiency (3); restore a lost excitability and as shown above and previously (1) (5) (6), does so.

Reversal of the excitation and restoration of excitability requires reversal of the colloidal change and re-adsorption of K. The forces available for this are Na(9), OH(4), Cl(8), and the other electric charge. Our picture of the excitation process is then that of MACDONALD (14) with added details.

The necessary conditions for maintaining the heart's excitability are from these experiments (1) the maintenance of a resting (diastolic) colloidal state in the exciting structure providing a supply of adsorbed KCl adequate on discharge to watery solution to evoke activity of the contractile structure(2) to keep such a supply of phosphates as enables Ca to link up and coagulate and thereby discharge the KCl.

The maintenance of the adequate resting state of colloidal aggregation depends on combating the synergic forces of calcium and the « tendency to die » and the solution doing this may be termed, for convenience and continuity of expression, a balanced solution.

In RINGER'S solution sodium assisted by alkalinity is the chief calcium antagonist but valency seems to play little or no part in the process. For though Na and Ca each exerts two independent and opposite actions on cardiac excitability (9), magnesium a divalent element exerts the same two actions as sodium though not to equal intensities and is physiologically inter-related to Ca just as is Na (9). Potassium on the other hand has less antagonism to Ca in RINGER'S solution but is rather a complementary part of the machinery.

In the blood there is still « balance » in the sense of maintaining an adequate resting state of colloidal aggregation but it is something of a different order from that of RINGER'S solution. Ductless gland hormones such as adrenalin can now come into play having a capacity to maintain the adequate resting colloidal state with much greater efficiency than sodium. Experimentally the presence of such a hormone is found to confer on the heart a capacity to work well on both absolutely diminished calcium and absolutely increased potassium(7), thus decreasing though the former the tendency to die and increasing though the latter the capacity to live. In what manner potassium phosphate keeps the cardiac machinery together these experiments do not show but they do show that it does in fact.

Finally we would note that these experiments with RINGER'S solution take us no farther than the excitation process for in the background of all the heart's variations of the heart's activity on RINGER the KCl solution revealed an unchanged maximum of contraction.

Summary.

1. Excitation fails first in the perfused heart.

2. Potassium chloride and phosphate exercise specific recuperative actions on the failing perfused heart and each has some function not performed by the other.

3. Calcium actively assists the perfused heart to fail.

4. Sodium is the chief antagonist to calcium but its use is limited by the need of isotonicity and an interference with oxidation.

5. Replacement of sodium by cane sugar gives augmentation as an immediate change together with a remote change depending on balance. If there were previous over-action of Na, replacement of Na by cane sugar recuperates also; if there were previous over-action of Ca, replacement of Na by cane sugar also impairs.

6. The capacity of a heart to show augmentation is conditioned by the starting point. A heart beating at such a height that more than 80 % of its contractile material is activated has little scope for augmentation and is with difficulty augmented. A heart beating at the 30 % level, say, has much scope for augmentation and is easily augmented. Since the fresh heart perfused with a balanced RINGER beats above the 80 % level whereas after three or four hours perfusion its beats are nearer the 40 % level, many substances exerting little action on the heart freshly perfused with a balanced RINGER may exert marked action when it is hypodynamic : not because they exert a specific action on the latter state but because of the physical possibility.

7. Inorganic perfusing solutions do not wash out of the heart during the first 24 hours anything essential to activity except potassium salts.

8. The « balance » of RINGER'S solution and the « balance » of blood belong to different orders.

9. The experiments with RINGER'S solution are found to throw light on the nature of the excitation process but not on the mechanism of contraction.

In conclusion I wish to express my indebtedness to the late Professor WALLER for facilities for work and friendly criticism.

—

REFERENCES.

1. BURRIDGE. — *Journal of Physiology*, XLII, 359, 1911.
2. BURRIDGE. — *Ibid.*, LI, 45, 1917.
3. BURRIDGE. — *Ibid.*, LV, 248, 1920.
4. BURRIDGE. — *Ibid.*, LV, III, 1921.
5. BURRIDGE — *Quart. Journ. Exp. Physiology*, V, 347, 1912.
6. BURRIDGE. — *Quart. Journ. Med.*, IX, 43, 1915-16.
7. BURRIDGE. — *Ibid.*, X, 163, 1917.
8. BURRIDGE. — *This Journal*, XXVI, 19, 1921.
9. BURRIDGE. — *Ibid.*, XXVII, 243, 1922.
10. BURRIDGE. — *Ibid.* XXVII, 353, 1922.
11. CLARK. — *Journal of Physiology*, XLVII, 66, 1913.
12. FISCHER. — *Oedema*, London, 1921.
13. LINGLE. — *Amer. Journ. of Physiology*, VIII, 98, 1902.
14. MACDONALD. — *Proc. Roy. Soc.*, LXXVI B, 322, 1905.
15. MARTIN. — *Amer. Journ. of Physiology*, XV, 316, 1906.
16. OVERTON. — *Pflüger's Archiv.*, CV, 176, 1904.
17. RINGER. — *Journal of Physiology*, XIV, 125, 1893.
18. SCHUCKING. — *Archiv f. Anat. u. Physiol.*, 218, 1901.
19. ZUNZ. — *Trav. du Lab. de Thérap.*, Bruxelles, 1908-9.
20. HÖBER. — *Physik. Chem. d. Zellen u. Gewebe*, Leipzig, 1911.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE DE L'UNIVERSITÉ DE GAND.
DIRECTEUR : PROF. J.-F. HEYMANS.

La tachycardie et la tachypnée pendant l'hyperthermie par le bleu de méthylène.

PAR

C. HEYMANS.

Nous avons déjà démontré, mon Père et moi, que l'hyperthermie jusqu'à 44°–45°, déterminée chez le chien par le bleu de méthylène, est conditionnée par une augmentation des échanges gazeux (1), allant jusqu'au quadruple de l'élimination carbonique normale, et que cette hyperthermie jusqu'à 44°–45° s'installe malgré une hyperdéperdition calorique (2), allant également jusqu'au quadruple de la normale. Donc, à priori, cette hyperthermie exige que les fonctions respiratoires et circulatoires augmentent suffisamment pourque cette augmentation des échanges gazeux et de la déperdition calorique puissent se faire. Aussi, avons-nous déjà constaté que le volume respiratoire, pendant cette hyperthermie, augmente jusqu'à 4–5 fois. Dans le présent travail, nous décrivons quelques-unes des modifications circulatoires et la fréquence respiratoire pendant cette même hyperthermie. De cette manière, nous préciserons l'état des fonctions circulatoires et respiratoires pendant l'hyperthermie croissante et mortelle par le bleu de méthylène ; le mécanisme de chacune de ces modifications devra faire ultérieurement l'objet de recherches spéciales.

Le bleu de méthylène et ses congénères (thionine, bleu d'azur, etc.) forment un groupe de substances chimiques définies, à propriétés hyperthermisantes rapides et intenses ; il ne faut donc les confondre ni avec les substances pyrotogènes (microbes et leurs dérivés), ni avec les substances qui élèvent passagèrement la température de quelques dixièmes de degré (chlorure de sodium, albumoses, etc.).

Jusqu'ici les expériences sur les modifications hyperhermiques

(1) J.-F. HEYMANS et C. HEYMANS. Hyperthermie et augmentation du volume respiratoire et de l'élimination carbonique par le bleu de méthylène. Ces *Archives*, 1922, Vol. XXVI, p. 443.

(2) IDEM. Hyperdéperdition calorique pendant l'hyperthermie par le bleu de méthylène. Ces *Archives*, 1923, Vol. XXVII, p. 319.

de la circulation et de la respiration ont été faites, presque toutes, en provoquant une hyperthermie exogène (1), tandis que l'hyperthermie par le bleu de méthylène est totalement endogène. Ce sont là deux états d'hyperthermie dont l'origine est diamétralement opposée.

Les différentes substances hyperthermisantes précitées ont déjà été appliquées chez environ 200 chiens. Nous avons, chez 70 d'entre eux, enregistré la fréquence respiratoire par le pneumographe et le pouls carotidien par les manomètres élastiques de Gad ou de Hürthle et par le manomètre à Hg.

Après avoir étudié toutes ces expériences, nous en retenons 5, d'allure variable, et dont les données principales, reproduites en chiffres et en partie en graphiques, serviront de base à nos conclusions.

Exp. I.— Graphique 1 *a, b, c, d* et *e* (*Voyez planche*).
Chien 114, 5,0 Kg. adulte ♂.
Canule dans la veine saphène, canule carotidienne reliée au manomètre de Gad, pneumographe. De 9 h. 58′ à 4 h. 36′, injection intraveineuse par doses fractionnées de 75 ctgr. de bleu de méthylène à 1 %.

Heures	T°	C.	R.
3h.55′	39°5	70	15
4h.06′	40°	120	64
4h.12′	40°5	150	100
4h.30′	41°	170	250
4h.45′	41°5	200	272
4h.54′	42°	260	244
5h.02′	42°5	276	228
5h.10′	43°	280	160
5h.17′	43°5	304	120
5h.19′	43°6	280	48
5h.21′	43°7	270	24 à 0

Arrêt respiratoire ; puis arrêt cardiaque.

Température (2) : de 39°5 à 3 h. 55′, elle atteint 43°7 à 5 h. 21′, soit une hyperthermie de +4°2 en 1 h. 26′.

Cœur : 1° Fréquence : de 70 à la minute à 39°5, elle s'élève à 170 pulsations à 41°, à 280 à 43° et atteint à 43°5 son maximum de 304 ; au-dessus de 43°5, elle diminue tout en se maintenant encore à 280–270, alors que la respiration est déjà tombée à 48–24 ; pendant la période asphyxique le pouls devient irrégulier et présente de fortes oscillations.

2° Amplitude : l'examen des graphiques 1 *a, b, c* et *d*, montre que

(1) Cfr. Bibliographie : TIGERSTEDT, *Physiologie des Kreislaufes*, 1921, 2. Auflage, 2. Band, S. 10 u. 432; 1922, 3. Band, S. 138, et J.-F. HEYMANS. Iso-, hypo- et hyperthermisation des mammifères par calorification et frigorification du sang de la circulation carotido-jugulaire anastomosée. Ces *Archives*, 1919, Vol. XXV, p. 1-216.

(2) Toutes les températures ont été prises au thermomètre rectal coudé, laissé en place.

l'amplitude du pouls carotidien augmente jusqu'au triple, que la pression minimale diminue, que la pression maximale augmente, la pression moyenne restant sensiblement la même.

Respiration : elle est de 15-20 environ à la minute à 39°5, elle s'accélère avec l'élévation de température pour atteindre la fréquence maximale de 272 respirations (cœur 200 seulement) à 41°5 ; puis elle diminue, malgré l'hyperthermie croissante ; elle est tombée à 120 à 43°5, alors que la tachycardie de 304 est maximale, puis à 48 à 43°6 enfin à 24 (43°7) pour s'arrêter ; la respiration s'arrête manifestement avant le cœur.

Exp. II.

Chien 170. 10 Kg ♀, jeune. Anesthésie au chloralose.

Canule dans veine saphène externe, canule carotidienne reliée au manomètre métallique de Hürthle. Pneumographe. A 3h. 25′ injection intraveineuse de 1,20 gr. chloralose ; de 3h. 55′ à 6h., injection intraveineuse par doses fractionnées de 50 ctg. de bleu de méthylène.

Heures	T°	C	R.
3h.55′	39°	168	20
4h.20′	39°5	215	20
4h.31′	40°	280	20
4h.46′	40°5	220	20
4h.55′	41°	300	20
5h.03′	41°5	310	150
5h.20′	42°	318	185
5h.40′	42°5	310	140
6h.07′	43°	315	60
6h.37′	43°5	320	40
6h.42′	43°6	330	18
6h.45′	43°7	330	18 à 0

Arrêt respiratoire, puis cardiaque.

Température : de 39° à 3 h. 55′, elle atteint 43°7 à 6 h. 45, soit une hyperthermie de +4°7 en 2 h. 50′ chez un chien profondément chloralosé et immobile, ce qui prouve, une fois de plus, que le bleu de méthylène n'est pas un hyperthermique convulsivant.

Cœur : 1° Fréquence : après anesthésie, le cœur est relativement rapide chez cet animal, de 168 à 39°. Il s'accélère considérablement dès le début de l'hyperthermie atteignant déjà 280 à 40° et 300 à 41° ; ce fait s'explique par la dépression respiratoire due au chloralose, elle n'est en effet que de 20 à la minute à 41° au lieu de 200 environ chez le chien non anesthésié ; le cœur doit pourvoir, par une circulation pulmonaire plus intense, à l'augmentation des échanges respiratoires. Cette accélération cardiaque va croissante avec la température, 318 à 42°, 315 à 43° et atteint la fréquence maximale de 330 contractions à

la minute à 43°6, alors que la respiration est déjà tombée à 18 à la minute.

2° Amplitude : l'amplitude du pouls carotidien à 43° et 43°6 est environ triple de celle à 39°.

Respiration : par le fait que l'anesthésie au chloralose supprime la polypnée réflexe, ce que RICHET a déjà signalé, on constate que la respiration reste lente (20 à la minute) jusque 41°5, température à laquelle s'installe la polypnée centrale : cette polypnée est néanmoins fortement déprimée par le chloralose, elle n'atteint que le maximum de 185 à la minute, au lieu de 300 comme chez le chien non chloralosé. Une dose suffisante de chloralose peut d'ailleurs supprimer complètement la polypnée centrale, comme nous l'avons signalé dans un travail antérieur. Au dessus de 42° la respiration faiblit beaucoup, elle tombe à 60 à 43° et à 40 à 43°5, pour une fréquence cardiaque de 330 ; elle s'arrête à 43°7.

La respiration étant arrêtée depuis 1 minute environ, et le cœur étant sur le point de s'arrêter, on institue la respiration artificielle : on constate que le cœur reprend et cela aussi longtemps que dure la respiration artificielle. Celle-ci étant supprimée, le cœur faiblit et s'arrête. Ce qui prouve bien que la mort à 43°7 est due à l'arrêt respiratoire et que celui-ci détermine l'arrêt subséquent du cœur.

Exp. III. — Graphique 2, *a, b, c, d, e* et *f* (*Voyez planche*).
Chien 116. 10,5 Kg. adulte ♂.
Canule dans veine saphène, canule carotidienne reliée au manomètre de Gad. Pneumographe. De 4h.24′ à 4h.44′ injection intraveineuse de 40 ctg. de bleu de méthylène. Pneumographe.

Heures	T°	C.	R.
4h.24′	39°5	80	90
4h.34′	40°	108	120
4h.43′	40°5	120	140
4h.49′	41°	125	160
4h.58′	41°5	140	190
5h.00′	42°	140	200
5h.06′	42°5	148	220
5h.16′	43°	170	230
5h.30′	43°5	250	264
5h.50′	43°8	312	186
6h.06′	44°	280	90
6h.10′	44°1	240	66
6h.13′	44°2	240	30 à 0

Arrêt respiratoire, puis cardiaque.

Température : de 39°5 à 4 h. 24′, elle atteint 44°2 à 6 h. 13′, soit une hyperthermie de + 4°7 en 1 h. 49′.

Cœur : 1° Fréquence : de 80 contractions à la minute à 39°5, elle s'accélère progressivement avec l'élévation de la température pour atteindre son maximum de 312 contractions à 43°8 ; à 44°2, elle est encore de 240.

2° Amplitude : comme l'examen des graphiques 2 *a*, *b*, *c*, *d*, *e* et *f* le démontre, l'amplitude du pouls carotidien présente pendant l'hyperthermie une très forte augmentation, de plus du triple de l'amplitude normale ; au-dessus de 43°, la pression moyenne diminue.

Respiration : le rythme respiratoire est déjà de 90 à 39°7, il s'accroit avec la température jusqu'à atteindre 264 à 43°5, puis il diminue rapidement pour tomber à 90 à 44° et à 30 à 44°2 et s'arrête, en produisant l'asphyxie.

Exp. IV.

Chien 122. 10,5 Kg. ♂, adulte.

Canule dans veine saphène externe. Canule carotidienne reliée au manomètre métallique de Hürthle. Pneumographe. De 4h.40' à 5h.20', injection intraveineuse de 42 ctgr. de thionine (1).

Heures	T°	C.	R.	Pression en cm. Hg.
4h.40'	38°1	108	44	19
5h.01'	38°5	78	Irrégulière	18.7
5h.10'	39°	78	pendant	
5h.17'	39°5	152	l'injec-	
5h.23'	40°	168	tion	
5h.28'	40°5	192	»	
5h.32'	41°	200	60	
5h.38'	41°5	212	88	
5h.46'	42°	228	108	
5h.55'	42°5	240	138	
6h.02'	43°	276	152	19
6h.10'	43°5	280	164	
6h.12'	43°6	284	120	
6h.13'	43°7	290	115	
6h.15'	43°8	295	110	
6h.17'	43°9	300	110	
6h.19'	44°	312	110	18.5
6h.21'	44°1	306	108	18.3
6h.24'	44°2	Arrêt resp. puis cardiaque.		

Température : de 4 h. 40' à 6 h. 24', soit en 1 h. 44', elle s'élève de 38° à 44°2, soit une hyperthermie de +6°2.

Cœur : 1° Fréquence : de 108 contractions à la minute à 38°1, elle passe par une période de ralentissement avec augmentation notable de l'amplitude ; ensuite elle s'accélère progressivement avec la température ; elle est de 276 à 43° et atteint la vitesse maximale de 312 con-

(1) C. HEYMANS : C. R. Soc. biol. T. 86 p. 742, 1922.

tractions à 44° ; à partir de 44° la fréquence diminue légèrement jusque 306 ; au moment de l'arrêt respiratoire, le cœur possède encore cette fréquence de 306 et ce n'est qu'après l'arrêt respiratoire qu'il se ralentit et bientôt s'arrête à son tour.

2° Amplitude : de 38° à 43°-44°, l'amplitude du pouls carotidien croit environ du simple au double.

La pression moyenne des courbes, transformée en cm. de Hg, est de 19 cm. à 38°1 ; elle subit une légère diminution passagère pendant la période inhibitrice exercée par la thionine, puis elle revient à la normale et s'y maintient jusqu'à l'approche de la mort ; à 44°2, quelques secondes avant la mort, elle est encore de 18,3 cm ; pendant l'asphyxie finale elle présente une ascension brusque jusque 20 cm. ce qui prouve, entre autres, que les vasoconstricteurs ne sont nullement paralysés à 44°2.

Respiration : 44 par minute, donc légèrement surnormale au début de l'expérience par l'état d'excitation de l'animal, elle s'accélère ensuite avec la température pour atteindre le maximum de 164 respirations à la minute à 43°5; à partir de cette température elle diminue progressivement pour tomber à 108, à 44°1, et s'arrêter brusquement à 44°2, entraînant ainsi la mort asphyxique.

Exp. V. — Graphique 3, *a*, *b*, *c*, *d* et *e* (*Voyez planche*).
Chien 115. 7,1 Kg. ♂, adulte.
Canule dans veine saphène externe, canule carotidienne reliée au manomètre métallique de Gad. Pneumographe. De 10h.20′ à 12h.27′ injection par doses fractionnées de 70 ctgr. de bleu de méthylène.

Heures	T°	C.	R.
10h.10′	38°5	78	20
10h.19′	39°	84	180 (1)
10h.36′	39°5	84	184
10h.42′	40°	90	188
11h.56′	40°5	120	188
12h.30′	41°	130	188
12h.36′	41°5	152	220 (2)
12h.47′	42°	180	300
12h.51′	42°5	192	312
12h.57′	43°	204	325
1h.01′	43°5	225	200
1h.07′	44°	240	174
1h.14′	44°5	304	138
1h.15′	44°6	308	45
1h.16′	44°7	310	42
1h.17′	44°8	201 à 0	40 à 0

Température : de 38°5 à 10 h. 10′, elle atteint 44°8 à 1 h. 17′, soit une hyperthermie de +6°3 en 3 h. 7′. L'ascension thermique a été

(1) Polypnée réflexe. (2) Polypnée centrale.

lente de 10 h. 36 à 12 h. 36′, à cause de la polypnée réflexe de défense qui s'est installée à partir de 39°.

Cœur : 1° Fréquence : de 78 contractions à 38°5, le cœur atteint 180 à 42°, 204 à 43°, 240 à 44°, et 310 contractions à 44°7. Le cœur est régulier jusqu'au moment où l'insuffisance respiratoire entraîne l'asphyxie. Le graphique 3, *e*, montre nettement les fortes contractions cardiaques finales avec élévation de la pression ; le cœur, malgré la température de 44°7, lutte encore contre l'asphyxie.

Les graphiques 3 *a* à *e* montrent l'accroissement de l'amplitude pendant les différentes phases de l'hyperthermie.

Pression sanguine : l'examen comparatif des graphiques indique que la pression moyenne n'a pas varié pendant l'hyperthermie jusqu'à 44°, où elle est même légèrement surnormale ; au-dessus de 44° à 44°8 la pression et l'amplitude du pouls diminuent pour se relever pendant l'asphyxie.

Respiration : Ce chien a présenté une polypnée réflexe de défense dès le début de l'hyperthermie ; ensuite la polypnée centrale à 41°5. La respiration s'accélère jusque 43°, atteignant la fréquence maximale de 325, puis elle diminue progressivement pour s'arrêter à 44°8 et entraîner la mort asphyxique du cœur.

Signalons en passant que cet animal, et ceux des expériences précédentes, voient et entendent jusqu'aux températures les plus élevées ; les réflexes, patellaire et palpébral, persistent jusqu'au stade asphyxique.

Récapitulons d'abord, dans le tableau suivant, les données sur la fréquence du cœur et de la respiration par rapport au degré de l'hyperthermie.

	Fréquence cardiaque à la minute					**Fréquence respiratoire à la minute**				
Temp.	*Exp. I*	*Exp. II*	*Exp. III*	*Exp. IV*	*Exp. V*	*Exp. I*	*Exp. II*	*Exp. III*	*Exp. IV*	*Exp. V*
38°				105					44	
38°5				78	78				—	20
39°		168		78	80		20		—	180
39°5	70	215	80	152	84	24	20	30	—	184
40°	120	280	108	168	90	64	20	120	—	188
40°5	150	220	120	192	120	100	20	140	—	188
41°	170	300	125	200	130	260	20	160	60	188
41°5	200	310	140	212	152	272	150	190	88	220
42°	260	318	140	228	180	244	185	200	108	300
42°5	276	310	148	240	192	228	140	220	138	312

(Voir suite p. 58).

	Fréquence cardiaque à la minute					Fréquence respiratoire à la minute				
Temp.	*Exp. I*	*Exp. II*	*Exp. III*	*Exp. IV*	*Exp. V*	*Exp. I*	*Exp. II*	*Exp. III*	*Exp. IV*	*Exp. V*
43°	280	315	170	276	204	228	60	230	152	*325*
43°5	*304*	320	250	280	225	120	40	*264*	*164*	200
43°6	280	330	270	284	225	48	18	—	120	—
43°7	270	*330*	310	290	230	24		—	115	—
43°8			*312*	275	230			—	110	—
43°9			280	300	235			—	110	—
44°			250	302	240			90	110	174
44°1			240	*306*	255			66	108	—
44°2			60	104	270			30		—
44°3					285					—
44°4					300					—
44°5					304					138
44°6					308					45
44°7					*310*					42
44°8					240					40
44°9										
45°										

Les données numériques de ce tableau, celles des protocolles et des graphiques reproduits ci-dessus, corroborées par celles des expériences non mentionnées ici, permettent de conclure :

1° L'accélération cardiaque ou la tachycardie chez le chien hyperthermisé par le bleu de méthylène, par la thionine etc., atteint le maximum de 300 à 330 par minute ; à 10 % près, elle est donc constante.

2° La fréquence cardiaque du chien normal et non fixé étant de 90–120, il en résulte que la tachycardie hyperthermique maximale est environ triple de la normale.

3° Le degré de la tachycardie n'est pas en rapport direct avec le degré de l'hyperthermie ; en effet, elle varie : à 40°, de 90 à 280 par minute ; à 41°, de 125 à 300 ; à 42°, de 140 à 318 ; à 43°, de 170 à 315 ; à 44° de 240 à 302 ; à 44°7, elle est de 310 par minute.

4° Chez un animal donné, la tachycardie augmente d'autant plus rapidement que l'hyperthermie maximale qu'il atteindra sera moins élevée ; et inversement, elle augmente d'autant plus lentement que l'hyperthermie maximale sera plus élevée.

5° La tachycardie maximale est seulement atteinte à 0°1–0°3 en dessous de l'hyperthermie maximale, c'est-à-dire 1–5 minutes avant l'arrêt respiratoire et la mort de l'animal.

6° L'accélération respiratoire ou la tachypnée pendant l'hyperther-

mie croissante peut présenter deux types : *a)* la tachypnée simple avec respirations fréquentes mais relativement profondes, *b)* la polypnée dite thermique (RICHET) à respirations très fréquentes, mais superficielles ; celle-ci peut être supprimée, en partie ou en totalité, par la chloralose.

7° La polypnée thermique atteint et dépasse 300 mouvements respiratoires par minute; par contre, la tachypnée simple, sans polypnée, ne dépasse guère 200 mouvements par minute.

8° L'accélération respiratoire, tachypnée simple ou polypnéique, pendant l'hyperthermie croissante, augmente plus rapidement et atteint plus tôt son maximum que la tachycardie ; elle est maximale à la température de 41°5–43°5 ; à ce stade de l'hyperthermie, la fréquence respiratoire dépasse la fréquence cardiaque.

9° Les réflexes médullaires (réflexe patellaire) et cérébraux (réflexe palpébral), ainsi que les fonctions cérébrales, visuelles et auditives, pendant l'hyperthermie croissante jusqu'à 44°–45°, persistent jusqu'au moment de l'arrêt respiratoire. Par conséquent, à l'inverse des anesthésiques généraux (chloroforme, éther, etc.), l'hyperthermie paralyse en premier lieu le bulbe et plus spécialement le centre respiratoire ; pendant l'asphyxie, par arrêt respiratoire hyperthermique, les centres vaso-moteurs sont encore excitables.

10° L'arrêt respiratoire pendant l'hyperthermie croissante ne se produit pas à une température fixe ; il n'est donc pas dû uniquement à l'action de la chaleur sur la fonction respiratoire. D'autres facteurs individuels interviennent incontestablement.

11° La tachycardie et la tachypnée précèdent légèrement chaque élévation de la température.

12° L'amplitude du pouls carotidien augmente progressivement avec l'hyperthermie.

13° La pression sanguine minimale diminue et la pression sanguine maximale augmente progressivement avec l'hyperthermie.

14° La pression sanguine moyenne reste sensiblement la même pendant toute la durée de l'hyperthermie, même jusqu'à 44°–45°.

15° Pendant l'hyperthermie croissante, la respiration faiblit progressivement dès que l'hyperthermie atteint 41°5–43°5, alors même que celle-ci atteint 44°-45° ; finalement la respiration s'arrête, entraînant l'arrêt du cœur, car, si l'on pratique la respiration artificielle, le cœur continue à battre, ce qui confirme que la mort par hyperthermie n'est pas due à la rigidité du myocarde, comme l'admit CLAUDE BERNARD, et comme l'admettent encore certains Manuels classiques de physiologie.

Ce serait ici le moment de comparer en détail ces modifications respiratoires et circulatoires chez le chien, pendant l'hyperthermie

endogène par le bleu de méthylène et ses congénaires, avec celles décrites par de nombreux auteurs pendant l'hyperthermie exogène, soit chez l'animal in toto soit chez le cœur isolé. Les conditions expérimentales étant si différentes, nous préférons nous en abstenir Faisons seulement remarquer qu'à toute évidence la circulation et la respiration d'un chien hyperthermisé par le bleu de méthylène ne sont pas régies uniquement par le degré d'hyperthermie ou par la loi de van 't Hoff sur les réactions chimiques.

PAGE NOT AVAILABLE

PAGE NOT AVAILABLE

ɔI

r-
e
-
-

a
a
-
R
a
e
n
e
a
i-
,

r
e
e
d
a
a
a

U
-
-
e

er
dl
cl
ta
se
ra
pi
v:

R° ISTITUTO DI STUDI SUPERIORI DI FIRENZE
LABORATORIO DI MATERIA MEDICA DIRETTO DAL PROF. G. CORONEDI

Contributo allo studio farmacologico dell' emetina

(Nota IIIa).

per il

DOTT. PIETRO-MARIA NICCOLINI
(Assistente).

È ormai acquisito fra le cognizioni mediche, ed è quasi universalmente oggi riconosciuto, che all'emetina si debbono attribuire molte volte proprietà emostatiche, specie in casi di emorragie polmonari. Rivediamo per sommi capi il passato ed il presente dell'argomento.

ROSSBACH (1882) (V. in 1) trattando dell'azione che l'emetina svolge fluidificando gli essudati bronchiali, esclude che essa provenga da una modificazione del calibro dei vasi della mucosa. I casi di avvelenamento sperimentale hanno dato resultati discordi: PÉCHOLIER (V. in 2) riscontrò i polmoni qualche volta anemici, qualche volta iperemici, e d'altra parte il caso dell'avvelenamento non è quello che ci può meglio illuminare sull'argomento che trattiamo. WILD (V. in 3) avrebbe constatato che l'emetina abbassa la pressione, e produce rarefazione delle pulsazioni, però nell'animale a sangue caldo, dopo la sezione del midollo spinale, sarebbe in grado di produrre vasocostrizione. CANTANI (4) afferma le proprietà emostatiche dell'ipecaquana, e ritiene che si verifichino mediante i nervi vasomotori.

Fra autori più moderni LESNÉ è pure di questa opinione per quanto riguarda l'azione emostatica dell'emetina, crede però l'azione limitata ai vasi polmonari. FLANDIN e LÉON BERNARD escludono che le dosi terapeutiche modifichino la pressione apprezzabilmente: ed anche il potere coagulante non pare modificato. Non sembra d'altra parte che l'emostasi si limiti all'ambito polmonare, inquantoché la si è ottenuta anche in emorragie di origine varia nel dominio della grande circolazione, sebbene con minor costanza di successo (5).

Rispetto all'ipeca, che in tali casi alcuni autori, fra cui TROUSSEAU e PETER (V. in 6), somministravano in dose emetica, si riteneva trattarsi di una azione ipotensiva da indebolimento del cuore e da vasodilatazione generale, per i quali fatti il getto dell'emorragia sarebbe diminuito di violenza, ed il potere coagulante del sangue avrebbe così

facilitato il suo compito di otturare i vasi. Però in altro punto della stessa opera si pone l'ipeca fra i vasocostrittori del piccolo circolo, di modo che risulterebbe evidente, come, dato l'indebolimento del cuore, la vasodilatazione generale, e la vasocostrizione locale, si ottenga l'emostasi meglio nell'ambito polmonare che in altri campi.

Tale interpretazione tuttavia non soddisfa quando si voglia illustrare il meccanismo di azione per l'emetina, che viene somministrata in dosi, che, dicesi, non agiscono né sul cuore, né sulla pressione. MANQUAT (7) retiene che l'emostasi avvenga per il meccanismo osservato da MAUREL, per il quale, come ebbi già occasione di riferire in altra mia nota, dosi di emetina quali le terapeutiche, non modificano né la pressione, né la coagulabilità, bensì dopo una fugace vasodilatazione causano una vasocostrizione duratura con occlusione dei piccoli vasi; ed inoltre nei tessuti congesti egli avrebbe osservato una azione decongestionante (ammessa anche da altri autori) per l'attivazione della circolazione, attivazione che confesso di non sapermi spiegare, dato che nessun altro fattore è intervenuto, stando con l'A., ad eccezione di una vasocostrizione. In ogni modo, ammessi questi fatti — che nelle mie esperienze non riuscii a confermare — è certo che l'azione emostatica si spiega assai bene. Però se la vasocostrizione dei piccoli vasi interessa tutta la circolazione — e così dovrebbe essere per potere interpretare l'emostasi intestinale, uterina ecc. — come mai non si ha un elevamento di pressione, dato e concesso che per tali dosi il cuore non modifichi in nulla il suo funzionamento?

Fra gli studî ad indirizzo clinico sperimentale, mi sembra utile tener cenno delle osservazioni di COLBERT e BAZIN (8) : questi autori, considerando un lavoro di carattere farmacologico di PLUMIER—CLERMONT (9) e di qualche altro, che sostiene la poca o punta possibilità di efficacia emostatica — perché in prove sperimentali con piccole dosi la pressione nel piccolo circolo e l'accelerazione del ritmo cardiaco aumentano — hanno istituito sistematiche ricerche sulla pressione, in pazienti trattati con l'emetina, ed all'arteria radiale hanno potuto constatare, *negli ipertesi*, una diminuzione di 35-45 mm. Hg. nella pressione massima, di 5-20 nella minima, e così pure discreta diminuzione nel valore dell'indice oscillometrico di 5-10 mm. (oscillazione massima osservata nel corso dell'esame fatto con l'oscillometro Pachon), cui viene attribuito un alto valore, esprimendo esso lo stato di tonicità vasale. In seguito a tali fatti si otterrebbe, secondo i citati autori, l'emostasi, ma ciò solo nei casi di ipertensione : la assenza di una ipertensione patologica sarebbe quella che causerebbe la scarsezza dei risultati sperimentali in animali sani, e quindi non ipertesi.

Ormai che già con due precedenti note mi era occupato delle proprietà dell'emetina, mi sembrava che questa dell'azione emostatica, clinicamente constatata, meritasse non una conferma, che sarebbe stata superflua, ma una interpretazione un poco più convincente di quelle

addotte dai pochi, che hanno cercato di indagarne il meccanismo di azione. Per questo ho voluto riprodurre alcuni degli esperimenti eseguiti da MAUREL (10), ed ho proseguito con altre indagini per rendermi il meglio possibile edotto delle ragioni del fenomeno, ma, dico subito, i resultati delle mie ricerche non mi hanno condotto ad alcunché di veramente importante.

* * *

Vediamo adesso quali siano i fattori principali che logicamente si possono invocare per potere spiegare l'emostasi, sia che agiscano isolati, sia che agiscano associati.

1° Vasocostrizione locale o generale,

2° Aumento della coagulabilità del sangue,

3° Diminuzione di pressione arteriosa,

4° Diminuzione dell'impulsò cardiaco,

5° Diminuzione delle resistenze in campi diversi da quello in cui ha sede l'emorragia.

Ciò premesso passiamo all'analisi sperimentale dei fattori sopra enumerati, per quanto può interessare l'azione dell'emetina nelle emorragie da organi interni in genere e dai polmoni in ispecie.

* * *

1° AZIONE DELL' EMETINA SUI VASI.

a) Osservazioni su organi di animali viventi, estroflessi od in situ

Esp. 1. — Rospo (Bufo vulgaris) di gr. 80 di p. c.

Viene preparato l'animale incidendo lateralmente il torace a tutto spessore e scoprendo anche il cuore. A traverso la ferita viene lussato all' esterno il polmone, stirato e disposto su apposito apparecchio, per potere osservare al microscopio le eventuali modificazioni dei suoi vasi. L'organo è mantenuto umido con applicazioni di soluzione fisiologica per gocciolamento : invece il farmaco viene applicato internamente, iniettandolo con lentezza nel ventricolo, infiggendo l'ago all' apice del cuores operazione che il rospo sopporta assai bene, senza che si provochino apprezzabili disturbi circolatori ; eccone i dati :

	Pulsazioni cardiache al minuto primo.	Velocità del sangue nei capillari polmonari.
All' inizio dell 'esperienza :	29	Normale ; non apprezzabili i globuli.
Iniezione di cc. 1 di soluzione fisiol. contenente clor. di emetina 1 /5000 ; dopo 10 m' :	32	id.
Altra iniezione di cc. 1, ½ ; dopo 15 m' dall' inizio :	38	id.
Dopo 20 m' :	38	id.
Dopo tre ore :	32	Velocità invariata.

Esp. 2. — Rospo di gr. 100 di p. c.

Viene preparato l'animale come il precedente, solo che invece di estroflettere il polmone viene steso il mesenterio per osservare le eventuali modificazioni del grande circolo.

	Pulsazioni cardiache al minuto primo.	Velocità del sangue nei capillari mesenteriali.
All' inizio dell' esperienza :	36	Normale, relativamente lenta.
Iniez. endoventr. di cc. 1 a 1/5000.	38	id.
Iniez. di cc. 2 ½.	48	Alternano periodi di arresto con alcuni normali, ed in qualche momento anche di velocità superiore alla normale.
Dopo 20 m' :	50	La velocità non ha subito rallentamento apprezzabile.

Non sto a riferire numerose altre esperienze del genere, alcune delle quali eseguite anche con applicazione esterna del farmaco. E' un fatto che le piccole dosi, come quelle usate nelle esperienze riferite, non inducono apprezzabili modificazioni. Solo usando forti concentrazioni si è talvolta ottenuto l'arresto della circolazione in circa mezza ora, sempre connesso però con l'arresto delle pulsazioni cardiache, essendo quindi evidente che si era di gran lunga oltrepassata la dose terapeutica.

Esp. 3. — Rospo di gr. 120.

In questo animale si eseguisce la circolazione artificiale col metodo di Trendelemburg mettendo in connessione la cannula afferente con l'aorta addominale e raccogliendo il liquido effluente dalla vena ombilicale mediana. Il liquido circola con una pressione di 30 cm. di acqua e viene fatto il confronto fra soluzione di Ringer, e la medesima addizionata di cloridrato di emetina in soluzione all' 1 : 5000. Si valuta il numero delle gocce che cadono dal tubo di efflusso in 30", e ne riferiamo le medie :

Ringer normale	media per 30"	: 13
Ringer con emetina	» » »	: 9,8
Ringer normale	» » »	: 9,8
Ringer con emetina	» » »	: 9,7

La presente esperienza depone per una vasocostrizione da emetina a carico del grande circolo : altre esperienze sono state in questo concordi, ma alcune sono rimaste dubbie.

b) Osservazioni su organi sopravviventi.

Vengono eseguite circolazioni artificiali sul piccolo circolo (cannula afferente nell'arteria polmonare, cannula efferente nell' auricola sinistra) con polmone e cuore staccati in blocco, dopo uccisione dell'animale per dissanguamento, mantenuti in bagno di Ringer tiepido.

In alcune esperienze si è eseguito contemporaneamente la ricerca sul grande circolo addominale (cannula afferente nell'aorta toracica ; cannula efferente nella vena cava inferiore al di sopra dello sbocco delle sopraepatiche), talora escludendo l'afflusso agli arti inferiori mediante pinzettamento dell'aorta addominale al di sotto della emissione delle arterie renali : l'animale è conservato in ambiente umido, tiepido ; il liquido usato per la circolazione è Ringer ossigenato e mantenuto a 38°-40°, con o senza aggiunta di sangue dell'animale stesso. Si valuta il quantitativo di liquido effluente entro un determinato periodo di tempo, esprimendo esso lo stato di maggiore o minore ampiezza del letto vasale.

Riassumo le esperienze nelle seguenti tabelle :

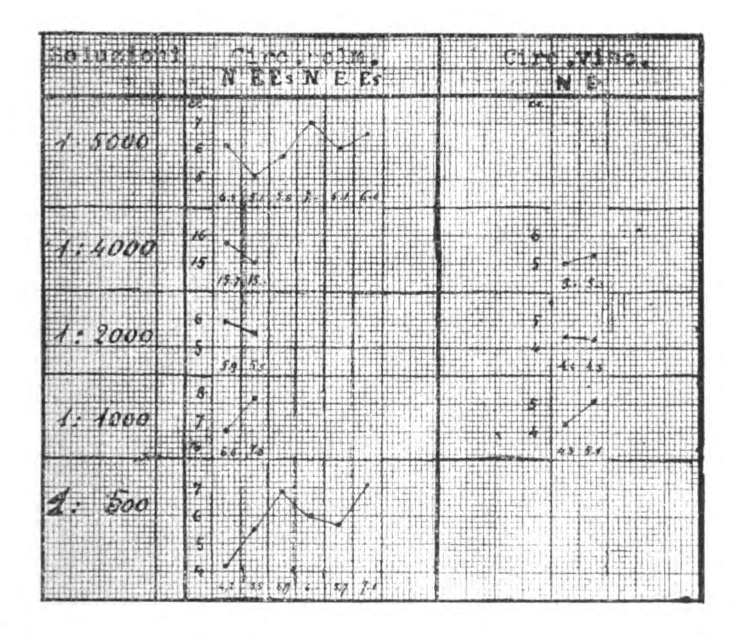
Esp. con sol. 1 : 5000 (N = Ringer puro; E = Ringer + Emetina; Es = Ringer + Emetina + Sangue) Press. 80 mm. Hg.	N	E	Es	N	E	Es	N	E	Es	N	E	Es
4. Coniglio di gr. 800 (Circolo polmonare). cc.	8.5	7.8	9.–	9.5	7.6	8.5	9.1	8.5	8.9	9.7	9.1	8.6
5. Coniglio di gr. 820 (Circolo polmonare). cc.	4.9	3.8	3.7									
6. Coniglio di gr. 820 (Circolo polmonare). cc.	5.3	4.6	4.6	4.6	4.7	4.8						

Esp. con sol. 1 : 4000 (N = Ringer puro; E = Ringer + Emetina; E' = Ringer + Emetina in sol. 1 °/°°).	N	E	E'	N	
7. Cavia di gr. 260 (Circolo polmonare). cc.	16.9	17.9			
(Circolo viscerale lasciando l'afflusso agli arti posteriori). cc.	4.7	4.8			
8. Cavia di gr. 280 (Circolo polmonare). cc.	14.5	12.–	10.5	2.9	
(Circolo viscer. c.s.) cc.	5.3	5.7	2.8	6.–	

Esp. con sol. 1 : 2000 (N = Ringer puro; E = Ringer + Emetina).		N	E	N	
9. Cavia di gr. 250 (Circolo polmonare).	cc.	6.8	6.-	7.3	
(Circolo visc. c. s.)	cc.	2.8	2.7	3.5	
10. Cavia di gr. 150 (Circolo polmonare).	cc.	5.1	4.9		
(Circolo visc. escluso l'afflusso agli arti posteriori)	cc.	6.-	5.8		
Esp. con sol. 1 : 1000 (N = Ringer puro; E = Ringer + Emetina).		N	E	N	
11. Cavia di gr. 230 (Circolo polmonare).	cc.	6.4	10.3	11.7	
(Circolo visc. lasciando l'afflusso agli arti posteriori).	cc.	7.6	7.9	8.1	
12. Cavia di gr. 300 (Circolo polmonare).	cc.	3.7	2.7		
(Circolo viscer. c. s.)	cc.	3.5	4.1		
13. Cavia di gr. 230 (Circolo polmonare).	cc.	9.6	10.3	7.7	
(Circolo visc. c. s.)	cc.	1.9	3.3	3.-	
Esp. con sol. 2 : 1000 (N = Ringer puro ; E = Ringer + Emetina ; Es = Ringer + Emetina + Sangue).		N	E	N	E
14. Cagnolino di gr. 700 (Circolo polmonare).	cc.	5.-	6.-	5.2	
15. Cagnolino di gr. 680 (Circolo polmonare).	cc.	2.4	2.3	2.4	2.-

		N	E	Es	N	E	Es	N	E	Es
16. Coniglio di gr. 800 (Circolo polmonare).	cc.	5.8	8.–	10.7	7.4	6.1	9.1	9.9	9.8	10.2
17. Coniglio di gr. 830 (Circolo polmonare).	cc.	2.5	2.9	3.–	4.7	5.2	5.1			

Riassumendo dai dati di queste esperienze sul comportamento dei vasi, escludendo le osservazioni dirette su organi di batraci esaminati al microscopio, che non mi hanno dato alcun resultato, mi sembra dover concludere che sul piccolo circolo le soluzioni molto diluite (1 : 5000-1 : 2000) dànno vasocostrizione, mentre le più concentrate (1 : 1000-1 : 500) dànno vasoparalisi. Sul circolo viscerale addominale le tre diluizioni provate (1 : 4000-1 : 1000) darebbero una vasodilatazione lievissima. Queste deduzioni sono appunto, detratte dallo studio della presente tavola, che offre il diagramma della media delle medie delle osservazioni iniziali, cioè di quelle più attendibili :



Ritengo dunque di potere asserire per quanto riguarda il primo dei fattori che mi proponevo di considerare che : *l'emetina in forte diluizione è capace di provocare vasocostrizione del piccolo circolo, senza modificare gran ché il calibro dei vasi del grande circolo*, ed il suo comportamento sui vasi risulterebbe inverso rispetto a quello che è stato notato per molte altre sostanze (11).

2° AZIONE DELL'EMETINA SULLA COAGULABILITÀ DEL SANGUE.

Molti altri autori che si sono occupati di questo argomento, fra cui ricordo FLANDIN e LÉON BERNARD e MAUREL non hanno constatato alcuna modificazione della coagulazione del sangue per effetto di dosi terapeutiche di emetina : io pure non ho osservato fatti speciali a questo riguardo, e non ho ritenuto il caso di estendere le ricerche.

***

3° AZIONE DELL' EMETINA SULLA PRESSIONE ARTERIOSA.

Abbiamo in precedenza eseguito due prove preliminari sulla pressione carotidea della cavia preparata sotto anestesia eterea : in questi due esperimenti abbiamo fatto uso di dosi tossiche, applicandole però per due vie diverse.

Esp. 18. — Cavia di gr. 300 di p. c.

La pressione normale è di circa 78 mm. Hg. Si inietta nella giugulare 1 cc. di soluzione di cloridrato di emetina 1 : 1000 ; pochi secondi dopo la pressione cade a 15 mm. Hg. circa, mentre il cuore pulsa ancora con discreta energia : la morte avviene poco dopo.

Esp. 19. — Cavia di gr. 450 di p. c.

Il trattamento del presente animale differisce dal precedente solo per la superficie di applicazione : inquantoché, invece di ricorrere alla via endovenosa, si è fatta una iniezione endoperitoneale. La pressione ha delle oscillazioni più marcate, ma nell' insieme non si modifica gran ché. Il fatto si ripete ad una seconda iniezione.

La esp. 18 non prova altro che, per quanto si tratti di una dose molto tossica, il cuore funziona fino all'ultimo in grazia della diminuita pressione, e ciò vedremo confermato dalle prove dirette sul cuore. L'esp. 19 invece dimostra che anche una dose tossica, ma non applicata per via endovenosa, è tollerata per parecchio tempo senza apprezzabili modificazioni di pressione.

Per potere però trarre delle conclusioni nette per, quanto riguarda le osservazioni eseguite in clinica, occorre cominciare dal metterci in condizioni più che è possibile simili a quelle, in cui si trova poi il paziente : a tale scopo nella seguente esperienza si comincia con iniezioni endovenose di dosi piccolissime, che, in proporzione del peso dell'animale, corrispondono ognuna ad 1/5 di quella usata comunemente nell'uomo in casi di emorragie (gr. 0.04 per Kgr. 65 di p.c.), ma rapidamente si raggiunge tal cifra (gr. 0,011), e di poi si oltrepassa, fino ad iniettarne 10 volte tanto.

Esp. 20. — Cane di Kgr. 18 di p. c., cui viene registrata la pressione carotidea e la respirazione: sono isolati i due nervi vaghi ed un crurale: le iniezioni sono fatte per via endogiugulare.

Decorso dell'esperimento	Pressione carot. mm. Hg.	Respirazione.
Normale	120	Regolare.
Eccit. vago: corr. ind. dist. delle bobine cm. 10	Ipotens. marcatissima.	Dispnoico.
Ecc. crurale: bobine a 10 cm.	Ipert. evidente.	Id. intenso.
Passato il periodo di eccitazione	110	Regolare.
Iniez. di cc. 2 sol. 1/1000	100 (fugace)	id.
» » cc. 2 »	90	id.
» » cc. 2 »	95	id.
» » cc. 2 »	92	id.
» » cc. 2 »	90	id.
È stata così raggiunta la dose proporzionale a quella che suole iniettarsi all' uomo: si è poi continuato l'esperimento:		
Eccit. del vago c. s. / Eccit. del crurale c. s.	Risposta pronta consueta.	
Passato il periodo di eccitazione	105	Regolare.
Iniez. di cc. 2 di sol. 1 %	80 (fugace)	id.
» cc. 2 »	75	id.
» cc. 1 »	80	id.
Eccit. vago e crurale	Risposta consueta.	
Dopo 10 m'	100	id.
Iniez. di cc. 2 sol. 1 %	80	id.
» cc. 2 sol. 1 %	80	id.
Eccit. vago e crurale	La risposta è pronta, ma l'ipertensione rimane più scarsa.	
Passato il periodo di eccitazione	60	Regolare.
Taglio bilaterale dei vaghi	50 (tachicardia)	Bradipnea.
Iniez di cc. 1 di sol. 1 %	45	id.

In totale questo animale ha ricevuto per via endovenosa cgr. 11 di cloridrato di emetina.

La esp. 20 dimostra adunque, che anche la dose comune quale emostatica nell'uomo, fatte le debite proporzioni, che per il nostro cane equivalevano a gr. 0,011, non dànno disturbi apprezzabili e sono accompagnate da lieve ipotensione non molto duratura (caduta di 30 mm. Hg.). Questa esperienza dimostra ancora che i centri bulbari restano intatti dall'emetina, anche con dosi 10 volte superiori a quelle che servono nell'uomo, solo l'ipertensione da eccitamento dei nervi sensitivi sembra appena ridotta: però va anche notato, che non si parte più da 110 mm. come in principio, ma solo da 80 circa, e che poi la stessa causa, che ha portato all'ipotensione, può in parte ostacolare la ipertensione da stimolo riflesso.

Questa esperienza infine dimostra ancora una volta che l'ipotensione emetinica non è di origine centrale, perché i centri bulbari restano eccitabili, perché nonostante il taglio bilaterale dei vaghi si verifica ancora, perché nonostante la forte dose di emetina usata gli stimoli periferici pressorî sono sempre bene avvertiti.

Rimaneva infine da dimostrare se la ipotensione era maggiore quando l'animale veniva a trovarsi in condizioni diverse dalla norma per quanto si riferisce alla sua pressione arteriosa, come direbbero COLBERT e BAZIN. E' infatti noto che in genere l'emottisi è preceduta da un periodo ipertensivo, e dipoi segue un periodo di ipotensione più o meno marcato secondo la quantità di sangue perduto, e secondo il comportamento di varî altri fattori, che non è qui il caso di indagare. A tal uopo è stata eseguita questa altra esperienza.

Esp. 21. — Coniglio di gr. 2200 di p. c.

Preparate nel modo consueto carotide e giugulare, si pratica una prima iniezione di gr. 0,00135 corrispondente alla dose umana, e si constata il solito piccolo abbassamento: dopo un certo tempo si iniettano due gocce di sol. di adrenalina all' 1/1000; avvenuta la ipertensione, si ripete l'iniezione di emetina: constatato che la ipotensione non è gran ché diversa da quella ottenuta precedentemente, si prova invece a salassare l'animale, da cui si tolgono circa 10 cc. di sangue; quando la pressione è così molto diminuita, si ripete l'applicazione di emetina, senza che per questo si notino modificazioni apprezzabili nella ipotensione che così si ottiene.

Ci sembra adunque che se anche nell' uomo si può forse sostenere come alcuni autori hanno fatto, che l'emetina è utile solo o sopratutto negli emoptoici ipertesi, ciò non è dimostrabile negli animali da esperienza. Rimane dunque assodato che *l'emetina induce una lieve ipotensione, e che questa non è di origine centrale.*

***

4° MODIFICAZIONI DELL' IMPULSO CARDIACO PER AZIONE DELL'EMETINA.

Dovunque, anche di sfuggita, si parli di azione dell'emetina sull'apparato cardiovasale, non vi è autore che tralasci di accennare, che quando in seguito ad una somministrazione oltrepassante i limiti terapeutici la pressione cade fin quasi a zero, il cuore pulsa ancora molto energicamente quasi per compensare i danni derivanti dalla ipotensione: da questa giusta osservazione, alcuni hanno dedotto, che l'emetina non leda apprezzabilmente il muscolo cardiaco, ma la morte dipenda più da lesione dei centri vasomotori che dal cuore: a tale idea ero incline ancora io, quando scrissi la prima di queste note, ma le successive esperienze mi hanno fatto ricredere. Infatti ritengo di poter dimostrare, che il cuore si mantiene apprezzabilmente energico, non perché tale rimanga in sé, ma perché trova una diminuzione delle resistenze del

circolo, per cui, pur essendo indebolito, può ancora, apparentemente, funzionare bene. E ciò non solo ha valore quando si tratti delle dosi mortali, come possono dimostrare le esperienze 22 e 23, ma anche quando si tratti di somministrazioni terapeutiche.

Esp. 22. — Tartaruga (Emys europaea) di gr. 200 di p. c.

Tolto il piastrone inferiore e scoperto convenientemente il cuore, viene immessa nel ventricolo — attraverso una incisione praticata sulla parete di una orecchietta, e quindi a traverso l'orificio atrio-ventricolare — una cannula a doppia via, intorno alla quale viene fortemente fissato tutto il cuore, mediante legatura eseguita nel solco atrio-ventricolare : la cannula comunica da una parte con varî sistemi di Mariotte contenenti liquido di Ringer puro od opportunamente medicato, che è destinato a circolare nel ventricolo ; dal foro di uscita viene regolata e registrata la pressione con un piccolo manometro a mercurio, che descrive il tracciato coi metodi comuni :

Liquido che circola	Modificazioni indotte.	Tracciato.
Ringer puro a 20 mm. Hg. di pressione.	Tracciato normale.	
Ringer contenente cloridrato di emetina in sol. 1/1000 : circola per 1 m'.	Il tracciato va rarefacendosi, e l'ampiezza diminuisce fino all' arresto : il cuore pulsa debolmente, e si lascia sfiancare dal liquido.	
Ringer puro.	Non riacquista valide pulsazioni neppur dopo molti minuti.	
Ringer puro, ma diminuendo la pressione a 12 mm. Hg.	Le pulsazioni riprendono rare ma assai valide.	

Tempo in m''.

Esp. 23. — Tartaruga di gr. 200 di p. c.

Si ripete la esperienza precedente, però si pratica la atropinizzazione delle terminazioni intracardiache del vago : ecco i resultati :

Ringer puro = Tracciato normale.

Atropina solfato 1/10.000 = La frequenza va aumentando.

Ringer puro = Prosegue l'aumento di frequenza.

Atropina solfato 2/10.000 = Il ritmo si altera e si ha una specie di polso bigemino, che si conserva anche facendo circolare di nuovo Ringer puro.

Emetina cloridrato 1/1000 = In un primo tempo regolarizza, ma in poche diecine di secondi l'ampiezza si riduce e la rarefazione si fa considerevole.

Ringer puro = Si conservano gli ultimi fatti descritti.

Esp. 24. — Coniglio di Kgr. 1 di p. c.

In questo animale si registra il polso longitudinale della carotide col metodo di DUCCESCHI (12) sospendendone il moncone centrale convenientemente isolato, in modo che applicato alla leva dell' apparecchio di Engelmann registri l'allungamento arterioso ad ogni sistole cardiaca, e la retrazione della arteria nel periodo della diastole.

Registrato il tracciato normale, si inietta nella vena auricolare gr. 0,0006 di cloridrato di emetina, equivalente alla dose che si usa nell'uomo, e si nota una evidente diminuzione di ampiezza, e solo un lievissimo aumento di frequenza: entro 4 m' tutto torna alla norma come dimostrano i tracciati registrati ad ogni minuto.

Dopo 4 m'.

Dopo 1 m'.

Iniez. endov. di gr. 0.0006 di Clor. Emetina, per kgr. di p. c.

Tracciato normale.



Allo stesso coniglio viene poi iniettata una dose mortale (gr. 0,01), e si nota rarefazione e diminuzione di ampiezza, qualche ampia respirazione spasmodica e in 10 m' circa muore.

Considerando le esp. 22 e 23 si rileva, che la azione dell'emetina in sol. 1/1000 sul cuore di emys perfuso, (e quindi non più capace di risentire le modificazioni di pressione del circolo, essendo da esso completamente isolato, per quanto in connessione con l'animale) consiste in rarefazione delle pulsazioni, e diminuzione di ampiezza. Dalla 24 poi si rileva che le dosi terapeutiche, almeno nel coniglio, dànno un leggero aumento di frequenza, e un evidente abbassamento di ampiezza. Dalla 22 poi si rileva chiaramente, che se in quel tempo si fa diminuire la pressione del circolo, il cuore è subito capace di funzionare, dunque vi è vera e propria diminuzione della forza del muscolo cardiaco, e ciò è confermato dalla 24; dalla 23 risulta infine che *l'emetina è un veleno paralizzante della fibra muscolare cardiaca*, perché il fenomeno si conserva anche dopo atropinizzazione delle terminazioni intracardiache del vago.

* * *

5° Diminuzione delle resistenze periferiche.

E' questo un fattore, che dal punto di vista generale non si poteva passare sotto silenzio, ma che in fin dei conti abbiamo già preso in considerazione. Il fatto stesso che l'emetina produce una lieve ipotensione, ed una lieve dilatazione dei vasi del grande circolo porta di conseguenza, che le resistenze periferiche diminuiscano.

* * *

Al termine di queste brevi ricerche ritengo dunque, che dai dati sperimentali esposti si debba avere per dimostrato, che le dosi terapeu-

tiche di emetina usate quali emostatiche, spieghino tale azione in virtù di questi fatti :

1° *per la vasocostrizione mediocre a carico del piccolo circolo, senza considerevoli modificazioni dei vasi del grande circolo* ;

2° *per la lieve e temporanea ipotensione, che per queste piccole dosi non è dovuta a fatti centrali, ma probabilmente alla minore energia cardiaca, e forse ai lievissimi fatti vasodilatatori talora riscontrati a carico di alcuni distretti del grande circolo* ;

3° *per la notevole diminuzione della forza contrattile del cuore, che si ha fin da principio, nonostante che un tal fatto possa sfuggire alla semplice osservazione diretta, perché equilibrato e nascosto dalla caduta della pressione.*

BIBLIOGRAFIA.

1. BERNATZIK e VOGL = *Materia medica* — *Vallardi* — Milano.
2. SOULIER = *Terapeutica e farmacologia* — Id.
3. STOKWIS = *Pharmacothérapie* — *Doin* — Paris — 1896.
4. CANTANI = *Farmacologia clinica* — *Vallardi* — Milano.
5. BRELET = *Gaz. des. hôp.* — 1913 — N° 46.
6. GILBERT e CARNOT = *Medicazioni sintomatiche* — Vol. XVI e XVII della collezione — *Vallardi* — Milano.
7. MANQUAT = *Thérapeutique* — *Baillière* — Paris — 1913-1918.
8. COLBERT e BAZIN = *Jour. de méd. et de chir. prat.* — 1920.
9. PLUMIER-CLERMONT = *Bull. de l'Ac. royale du Belg.* — 1919.
10. MAUREL — *Arch. de méd. exper. et d'anat. path.* — Vol. XXVI.
11. SICCARDI E LOREDAN = *Arch. di Fisiol.* — XII, 1914.
12. DUCCESCHI — *Arch. di fisiol.* — I, 1904.

INSTITUT DE PHARMACOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE BERNE.
DIRECTEUR : PROF. E. BÜRGI.

OBSERVATIONS A LA FENÊTRE ABDOMINALE "COLIQUE„ DU CHAT

I. — Mouvements intestinaux normaux et action péristaltogène des purgatifs anthraquinoniques

PAR

EMILE LENZ
Privat-docent de Pharmacologie.

I. Introduction, Problème, Choix d'une méthode expérimentale.

Les recherches qui font l'objet de ce travail on été exécutées à la « fenêtre abdominale » et représentent la première étape d'une série de travaux en cours, destinés à élucider le mécanisme de la purgation anthraquinonique.

Le problème consistait à analyser *l'action péristaltogène* de ces purgatifs à l'aide d'une technique nouvelle, plus appropriée que celles employées jusqu'ici. Pour arriver à ce but, il fallait recourir à une méthode d'investigation répondant à de multiples exigences. Dès l'abord, il importait d'analyser le *péristaltisme du côlon*, MAGNUS ayant reconnu par radioscopie que cet organe était le siège principal où l'action du séné se manifestait. Ces recherches laissaient supposer que les anthraquinones engendraient de grands mouvements coliques, s'étendant probablement à de *longs segments ou même au côlon entier*, d'où la nécessité d'innover une méthode qui permette d'examiner la motricité du côlon dans toute son étendue.

D'autre part, il était nécessaire d'observer simultanément les

mouvements de *l'estomac* et de *l'intestin grêle*, étant donné l'influence probable, directe ou indirecte, *(réflexe)* de ces organes sur le mécanisme de la purgation anthraquinonique.

Comme *animal d'expérience* nous avons donné la préférence au *chat*, pour des raisons que nous indiquerons plus loin.

Les relations étroites existant entre le *contenu intestinal* et les *mouvements péristaltiques* nous semblaient revêtir un intérêt capital ; aussi désirions-nous suivre simultanément la marche du contenu et analyser les mouvements déclanchés par les purgatifs.

Les purgatifs anthraquinoniques agissent lentement, leur action se prolonge pendant des heures et même des jours. Pour se faire une idée complète du péristaltisme de purgation, il fallait donc chercher une *méthode qui permît une observation continue durant une journée entière*. Pour faire une étude comparative exacte, entre le péristaltisme normal et le péristaltisme de purgation sur le même animal, il était indispensable de recourir à un procédé autorisant l'observation à *longue échéance*.

La radioscopie répondait-elle à ces exigences? MEYER-BETZ et GEBHARDT ont déjà insisté sur le fait qu'à l'écran on ne voyait que le « motum » et le non le « movens ». Autrement dit, si nous pouvons suivre à l'écran le déplacement de l'ombre bismuthée, nous ne voyons en somme que l'*effet* d'un mouvement, mais pas la contraction musculaire, qui est la *cause* de ce déplacement. La radioscopie se montre particulièrement insuffisante pour une *analyse* détaillée des différentes *formes de mouvements coliques*. De plus, étant donné le danger des radioscopies prolongées, une *observation continue* n'est pas praticable et il faut se contenter d'images courtes et discontinues.

Entraient encore en considération les *méthodes graphiques*. En faisant agir les anthraquinones sur le côlon de chat, isolé d'après la méthode de MAGNUS, je n'ai obtenu que des effets inhibiteurs. Il fallait donc recourir à l'animal vivant. BAYLISS et STARLING ont inauguré l'entérographe (ballon de caoutchouc rempli d'air etc.), qui leur a permis d'enregistrer les mouvements coliques, et DUBUS et SURMONT, dans leurs intéressantes recherches physiologiques sur le côlon du chien, se sont servis d'une méthode semblable. Mais l'analyse des mouvements coliques à l'aide de ce ballon enregistreur a plusieurs inconvénients : le ballon ne nous renseigne que sur les contractions d'un segment relativement limité du gros intestin, et de plus il ne peut nous donner qu'une idée incomplète quant à la forme des mouvements. D'autre part il exige la narcose et la la parotomie, qui diminuent l'excitabilité du côlon.

Choix de l'animal pour les expériences de purgation.

Le but de nos recherches était d'éclaircir le mécanisme de l'action des purgatifs anthraquinoniques chez l'homme, à l'aide d'une analyse expérimentale sur un animal dont les fonctions intestinales motrices, spécialement celles du côlon, se *rapprochassent* le plus possible de celles de *l'homme*. Nous savons que la physiologie et la pharmacologie du tube digestif varient beaucoup selon l'espèce animale ; la différence est surtout très marquée entre les *herbivores* et les *carnivores*. Le sujet le plus approprié à nos expériences eût été le *singe*, et nous avons l'intention de poursuivre nos essais de fenêtre abdominale sur cet animal.

Le lapin ne saurait entrer en ligne de compte, car il est réfractaire à la purgation anthraquinonique, alors que l'intestin de l'homme réagit fortement à ces substances.

Les *carnivores* réagissent mieux que les herbivores à ces purgatifs. La cause de cette différence sera discutée plus loin. Le *chien* est purgé par les anthraquinones, mais il est peu sensible à leur action qui, chez lui, est très inconstante.

Par contre, d'après les constatations de H. MEYER, VIETH et MAGNUS, le chat se prête bien aux expériences de purgation par les anthraquinones. D'après mon expérience, on provoque régulièrement chez le chat des selles liquides en administrant à doses à peu près égales à celles employées chez l'homme, les purgatifs anthraquinoniques suivants : séné, extrait de bourdaine (extract frangulae), aloïne, franguline, istizine, anthrapurpurine. L'intestin de chat ayant une surface beaucoup moins grande que celle de l'homme, il en résulte qu'il est moins sensible.

Puisqu'il s'agissait de l'étude des *purgatifs coliques*, il importait de choisir un animal d'expérience dont la motricité *colique* se rapprochât le plus possible de celle de l'homme. C'est le cas pour le chat. En effet, les recherches radiologiques de CANNON et MAGNUS sur le chat et celles de v. BERGMANN et de l'auteur sur l'homme, nous ont révélé une analogie étroite entre les réactions motrices du côlon de chat et celles de l'homme, bien que l'*anatomie du côlon du chat* diffère sensiblement par sa surface lisse et l'*absence des bosselures*.

La méthode de la *fenêtre abdominale* appliquée au côlon de chat et *alliée à la radioscopie*, telle que nous l'avons employée dans nos expériences, répond en ses points essentiels aux exigences qui viennent d'être formulées. Autre avantage de cette méthode : l'état de l'animal reste normal, pour peu qu'on ait soin d'éviter les complications post-opératoires.

Avant de décrire notre méthode expérimentale, nous donnerons

un *aperçu historique*, concernant les travaux qui, à notre connaissance, ont été faits dans le domaine de l'action péristaltogène des purgatifs anthraquinoniques.

Historique.

BRANDL et TAPPEINER étudièrent en 1889 l'action de l'aloïne et de l'infusion de séné sur le péristaltisme intestinal du chien. Ils mesurèrent la vitesse du passage intestinal d'un ballon de caoutchouc, introduit par une fistule gastrique et relié à un tuyau de caoutchouc gradué, de 2 1/2 m. Ils constatèrent que le séné accélère la progression du ballon et augmente la force des mouvements intestinaux, car il fallait un contre-poids plus grand qu'à *l'état normal*, pour arrêter la progression du ballon. La stimulation par le séné était peu marquée, plus faible encore était celle de l'aloïne.

ESSLEMONT rechercha en 1889 l'action de quelques anthraglycosides et aglycones purs, préparés par TSCHIRCH et OESTERLE, en employant la méthode suivante : Sur le chien vivant, il comparait à l'état normal et sous l'influence des purgatifs, la vitesse de passage d'une boule de liège, à travers une anse du grêle, isolée d'après le procédé de THIRY-VELLA. L'administration des purgatifs se pratiquait soit directement dans l'anse isolée, soit par voie buccale. Le premier dispositif renseignait sur l'action locale, le second sur l'action indirecte qui, comme nos recherches le démontreront, est d'ordre réflexe. ESSLEMONT a constaté que l'émodine de l'aloès, l'acide chrysophanique et l'aloïne administrés par voie buccale, accéléraient indirectement la progression de la boule dans l'anse isolée, entre 2 et 7 heures après l'ingestion. L'action directe semblait être moins nette.

En 1904 MAC CALLUM observait chez le lapin les mouvements de l'intestin grêle, en procédant à une simple laparotomie sous narcose et constatait que l'injection intraveineuse de 1 cm^3 d'extrait de cascara sagrada à 2 % stimulait le péristaltisme. La même solution, appliquée directement sur la séreuse intestinale, provoquait 3 minutes plus tard des mouvements péristaltiques intenses, ainsi que de l'hypérémie. Administrée dans la cavité d'une anse grêle, la solution de cascara activait également le péristaltisme ; mais dans l'estomac le même essai n'avait aucun succès. La rhubarbe agissait plus faiblement que le cascara. M. CALLUM déduit de ces expériences que ces purgatifs exerçaient leur action péristaltogène seulement après leur résorption. Nos résultats ne confirment pas cette interprétation.

Les recherches de MAGNUS (1908) ont réalisé un progrès considérable dans nos connaissances relatives à l'action des purgatifs anthraquinoniques, et il fut le premier qui eut l'idée d'appliquer

la méthode radioscopique à ce problème. Il a découvert chez le chat que le séné était un *purgatif colique*, c. à d. que cette drogue, ingérée à la dose de 2 gr. accélère le passage du bismuth uniquement dans le côlon, tandis que le parcours à travers l'estomac et l'intestin grêle reste normal. La première défécation liquide avait lieu dès que le séné arrivait au niveau du gros intestin, et l'antipérisaltisme colique semblait être aboli par cette drogue. En outre MAGNUS a démontré que chez le chien, l'effet purgatif du séné subsiste encore lorsque les centres spinaux de la région lombaire sont détruits.

La doctrine de MAGNUS, concernant la localisation élective de l'action purgative des anthraquinones, a été confirmée plus tard chez l'homme par les recherches radiologiques de AUBOURG et LEBON (1911-1912), de STIERLIN (1910) et de MEYER-BETZ et GEBHARDT (1912). D'après STIERLIN le séné semble supprimer les mouvements rétrogrades du côlon humain. Selon MEYER-BETZ et GEBHARDT, le séné et l'aloès n'accélèrent nullement le passage du bismuth dans l'estomac ou l'intestin grêle, mais uniquement dans le côlon. En outre, ces auteurs n'apercevaient jamais les signes de la transsudation intestinale ou de la liquéfaction du contenu par l'entravement de la résorption, comme c'était le cas pour d'autres purgatifs. Sous l'influence du séné et de l'aloès, on voyait fréquemment apparaître de grandes poussées antérogrades de l'ombre bismuthée. Un aspect spasmodique de l'ombre colique était caractéristique pour l'action de l'aloès.

Mentionnons encore les recherches intéressantes de P. CARNOT et R. GLÉNARD (1913) qui, grâce à leur méthode de circulation artificielle, ont pu étudier l'action du séné sur l'intestin de lapin maintenu en survie : 10 cm^3 d'une infusion de séné à 2 %, introduits dans la cavité d'une anse grêle, provoquèrent une forte augmentation des mouvements de l'anse, avec apparition d'étranglements, de bagues de contractures, de trains d'ondes énergiques aboutissant à une évacuation presque complète par l'extrémité distale. Lorsque ces auteurs introduisaient le séné par voie vasculaire, en l'additionnant au liquide de perfusion, ils assistaient à une stimulation semblable, mais moins énergique. En outre ils ont remarqué que l'excitation produite par le séné sur l'intestin grêle du lapin, offre un caractère spasmodique, que nous retrouvons chez le chat.

P. CARNOT et GLÉNARD admettent que le séné est un excitant direct des fibres musculaires lisses et du plexus d'Auerbach, tandis que nos recherches nous conduisent à la conception que le séné est un irritant de la muqueuse intestinale seule. Un fait très intéressant, trouvé par P. CARNOT et R. GLÉNARD, est celui-ci : des anses grêles en survie, prélevées sur un lapin qui a ingéré du séné avant sa mort, offrent une hyperexcitabilité motrice remarquable. Sur des anses maintenues en survie par la circulation artificielle, le sérum sanguin

des lapins, ayant ingéré du séné, possédait une action péristaltogène plus marquée que le sérum normal. Ces auteurs interprètent les faits cités, en admettant que le séné augmente l'hormone péristaltogène des tissus.

—

II. — Méthode de la fenêtre abdominale.

Le principe est le suivant : On remplace une partie plus ou moins grande de la paroi abdominale par une plaque transparante en verre ou en celluloïde, ce qui est compatible avec la survie de l'animal et permet l'observation directe de certains organes de la cavité abdominale.

1. Historique du procédé.

En 1872, VAN BRAAM-HOUCKGEEST essaya de fixer dans la paroi abdominale une fenêtre en verre ; mais ses résultats ne furent pas satisfaisants, il renonça à poursuivre ses expériences avec ce procédé et préconisa le bain salé de SANDERS.

En 1909, SABBATANI, publia à son tour un procédé pour pratiquer une fenêtre abdominale. Celui-ci consistait à fixer dans la région abdominale, un verre de montre au moyen d'un anneau de plomb. Mais ces animaux contractaient régulièrement une péritonite, ce qui limitait l'observation à 1 ou 2 jours.

En 1913, KATSCH et BORCHERS ont élaboré pour le lapin une technique opératoire beaucoup plus parfaite, *aseptique*, qui assurait aux animaux une longue survie. C'est à ce procédé que KATSCH eut recours pour étudier les mouvements normaux et l'action des alcaloïdes sur l'intestin du lapin, et BORCHERS pour l'étude de l'activité normale de l'estomac du chat. Dans le procédé opératoire de KATSCH et BORCHERS, la fenêtre est constituée par une plaque de celluloïde, de forme rectangulaire, de grandeur variable. Pour mener à bien l'opération, ces auteurs ont soin de s'entourer de précautions aseptiques rigoureuses. On pratique une première ouverture de forme rectangulaire, dans la peau, puis une seconde plus petite, intéressant la couche musculaire et le péritoine. On fixe la plaque de celluloïde sur les bords de la plaie musculaire à l'aide d'une suture continue ; puis on rabat la peau sur les bords de la plaque de celluloïde, sur une largeur de 1 cm., en appliquant quelques sutures dans les quatre coins de la fenêtre. La plaie en se cicatrisant maintient la plaque de celluloïde, qui ferme complètement la cavité péritonéale. Ainsi les animaux peuvent survivre plusieurs semaines à l'opération.

Malgré ce perfectionnement du procédé opératoire, la méthode de la fenêtre abdominale n'a pas pu acquérir jusqu'ici un rôle important dans les études pharmacodynamiques. Cela tient à mon avis,

à ce que cette méthode a été appliquée à l'étude de problèmes comme p. ex. l'action des alcaloïdes sur l'intestin grêle du lapin, qui étaient facilement accessibles aux méthodes graphiques, indubitablement plus exactes.

Mais les méthodes graphiques me semblaient ne donner que des résultats insuffisants dans l'étude du *péristaltisme de l'utérus gravide*, (*contractions pendant l'accouchement*) et du *côlon du chat*. C'est alors que j'ai eu l'idée d'appliquer la méthode de la fenêtre à l'analyse de ces problèmes. Pour le côlon de chat il fallait innover une autre technique opératoire. En ce qui concerne la Pharmacodynamie du *péristaltisme de l'accouchement*, voir mes travaux faits en collaboration avec LUDWIG dans les Archiv. f. Gynaekolog. 1923.

2. Notre technique opératoire de la fenêtre abdominale, appliquée au côlon de chat.

Si l'on procède d'après la technique indiquée par KATSCH et BORCHERS, le colon du chat reste invisible à la fenêtre, car il est situé sur la face postérieure de la cavité abdominale et complètement recouvert par la masse compacte des anses grêles et l'épiploon. J'ai élaboré une technique, qui permet de voir à la fenêtre le colon entier du caecum au sigmoïde. Pour arriver à fixer le côlon devant l'intestin grêle, nous avons procédé comme suit :

1° Préparation de la plaque de celluloïde. Pour une grande fenêtre, elle mesurera p. e. 6 cm. de largeur, 10 cm. de longueur et 3 mm. d'épaisseur. On la désinfecte pendant quelques heures dans le sublimé. — 2° Dépilation de la région abdominale du chat au moyen d'une pâte de CaS et BaS. Désinfection de la peau à la teinture d'iode. — 3° Point capital : pour éviter la péritonite, procéder en tout avec une asepsie aussi minutieuse que celle d'usage dans la laparatomie sur l'homme. — 4° Narcose simple à l'éther. — 5° Pour le premier acte opératoire on suit les indications de KATSCH et BORCHERS : On pratique une première fenêtre rectangulaire dans la peau et le tissu cellulaire souscutané, puis une seconde, un peu plus petite, dans la couche musculaire et le péritoine (Hémostase). La paroi abdominale du chat se distingue par sa forte tension, de sorte qu'après la section des muscles les bords de la fenêtre se rétractent très fortement. Aussi est-il prudent de ne pas pratiquer dès l'abord un orifice musculaire trop grand, quitte à l'agrandir ensuite au cas où la fenêtre ne s'adapterait pas bien aux bords rétractés. — 6° Acte principal : *déplacement opératoire du côlon*. Dès que le péritoine est ouvert, on redonne de l'éther jusqu'à ce que les muscles soient tout à fait relâchés. — 7° On resèque l'épiploon entier, lequel est si épais chez le chat qu'il empêcherait toute observation. — 8° On cherche le côlon

et on l'attire en entier dans la plaie, refoulant à droite les anses grêles que l'on couvre de compresses chaudes. — 9° Puis on pratique avec le doigt un *grand orifice* dans la partie du mésocôlon la plus pauvre en vaisseaux sanguins. On agrandit cette ouverture, autant que possible sans léser le grand arc vasculaire. — 10° A travers l'ouverture mésocolique on attire la moitié de la masse des anses grêles vers la gauche. De cette façon on arrive à coucher le côlon entre deux parties égales d'anses grêles, formant des sortes de *pelotes* qui poussent le côlon ascendant vers la ligne médiane. Ceci favorise la fixation durable du côlon dans le cadre de la fenêtre. Cette fixation est encore mieux assurée, si l'on rapproche le côlon ascendant du descendant en réunissant le mésocôlon ascendant avec le mésocôlon descendant à l'aide de deux sutures, dont l'une est située au voisinage du caecum. En outre, on fixe par deux sutures le *mésocôlon transverse* au *moignon* de l'épiploon dans la région pylorique. Ces sutures de fixation, ne touchant pas les parois du côlon, celui-ci reste assez mobile pour ne pas être gêné dans ses mouvements péristaltiques. — 11° Dernier acte : on fixe provisoirement la fenêtre de cellulloïde sur les lèvres de la plaie musculaire à l'aide de pinces de Péans et l'on ferme ainsi rapidement la cavité péritonéale, ce qui est important pour la bonne issue de l'opération. Ensuite on suture le celluloïde aux lèvres de la plaie musculaire à l'aide d'une suture continue. On emploiera de fines aiguilles et l'on aura soin de ne faire que de très petits trous dans le celluloïde, car ces orifices ouvrent la voie aux bactéries (source redoutable de péritonite). On s'assure aussi que la suture, qui fixe le celluloïde à la couche musculaire, ferme hermétiquement la cavité péritonéale. On rabat alors la peau que l'on fixe par des points de suture aux 4 coins, de façon à ce qu'elle borde la plaque de celluloïde sur une largeur de 1 cm. et recouvre les trous faits par les points de suture. On ferme les lèvres de la plaie cutanée avec une couche épaisse de collodion et on couvre le tout d'un pansement aseptique.

Il s'agit maintenant de préparer une *couche confortable* à l'animal qui doit, des semaines durant, rester étendu sur le dos, les pattes légèrement fixées. On utilise à cet effet une planche de 60×80 cm. où l'on placera l'animal sur une couche épaisse de cellulose ou d'ouate, en ayant soin de mettre une alèze sous les cuisses. On fixe aux pattes des bandes de leucoplaste, à l'aide desquelles l'animal sera maintenu sur le dos sans être trop incommodé. Quelques jours plus tard, on relâche ces liens pour permettre à l'animal de se coucher sur le flanc. Au-dessus du chat on place une simple caisse en bois, munie d'une lampe électrique, destinée à maintenir la température ambiante aux environs de 25°.

SOINS POST-OPÉRATOIRES.

S'il est couché confortablement, le chat s'habitue bientôt à son immobilité relative et au bout de quelques jours reprend son humeur normale. A présent il faut veiller à ce que la fenêtre *reste* hermétiquement close. Lorsque l'animal est muni d'une *grande fenêtre*, il sera prudent de le maintenir couché sur le dos. Par contre lorsque la fenêtre est petite, on pourra, au bout de quelques jours, le laisser courir dans une cage propre, en ayant soin de protéger la fenêtre avec une bande de flanelle. La bonne réussite de l'opération et la santé de l'animal dépendent maintenant avant tout des soins de propreté, surtout si l'on répète à quelques jours d'intervalle des expériences de purgation. Il faudra soigner un tel chat, comme on soigne un nourrisson et prévenir le décubitus en employant beaucoup de poudre de talc, etc.

Nourriture : 24 heures après l'opération : thé ou lait chaud ; vers le troisième jour : viande, dont on augmentera peu à peu la quantité. Avant de procéder à une expérience de purgation on constipera préalablement le chat par un régime carné exclusif (viande maigre cuite).

3. Méthode d'observation des chats fenêtrés.

Quatre à six jours après l'opération, les mouvements intestinaux reprennent leur vigueur normale. Pour s'en assurer on procédera d'abord à un transit baryté suivi aux rayons X, qui nous renseignera grosso modo sur la motilité intestinale. Le déplacement du côlon, précédemment décrit, n'entrave pas le transit colique. Mais un autre facteur, parfois difficile à éviter, peut ralentir le passage, c'est le refroidissement de l'animal immobile, exposé à une observation continue. qui peut durer une journée entière. On devra donc travailler dans une chambre très chaude, ou réchauffer l'animal à l'aide de lampes ou de coussins électriques.

4. Topographie des organes visibles à la fenêtre abdominale — colique — du chat.

Les grandes fenêtres fournissent une *vue d'ensemble* de toutes les régions du tube digestif. Au bord supérieur de la fenêtre on voit apparaître le foie, *l'estomac* et la vésicule biliaire ; au bord inférieur la *vessie*. Selon l'état de réplétion, seul le tiers inférieur ou la moitié de l'estomac deviennent visibles. L'espace principal est occupé par le *côlon*, dont on aperçoit les parties *ascendante*, *transverse* et *descendante* ; il est entouré de quelques anses grêles, appartenant d'ordi-

naire à *l'iléon*. Notre procédé opératoire rapproche artificiellement le côlon ascendant du descendant d'où il résulte que le transverse paraît plus court qu'il n'est normalement.

Dans nos images relevées à la fenêtre, la partie ascendante et tranverse correspondent au *côlon proximal*, la partie descendante au *côlon distal*, suivant la terminologie de CANNON. Le côlon sigmoïde est ordinairement situé en dehors de la fenêtre, mais on parvient à l'amener temporairement dans son cadre, en exerçant avec la main une pression sur le flanc gauche.

Calques relevés sur la fenêtre abdominale — colique —.

Tous les mouvements intéressants de l'intestin et spécialement ceux du côlon ont été décalqués *directement à la fenêtre* sur de minces plaques de celluloïde. Avec un peu d'exercice on arrive facilement à fixer le contour et l'aspect revêtu par le côlon dans *les différentes phases* d'un *mouvement péristaltique* même rapide.

Les figures de nos planches sont les reproductions de ces calques relevés à la fenêtre et donnent donc l'image exacte et non schématique des formes intestinales.

5. Observation combinée à la fenêtre abdominale et à la radioscopie.

Pour déceler les relations étroites qui existent entre *le contenu* de l'intestin et le *péristaltisme*, nous avons, dans toutes les expériences importantes, suivi sur le même chat la progression du contenu à l'aide de la radioscopie, faite à intervalle réguliers, et observé les images péristaltiques à la fenêtre abdominale. Dans ce but les purgatifs étaient toujours mélangés soit à du *citobaryum* Merck (12 gr. sur 40 cm^3 d'eau) soit à du bismuth (8 gr. sur 40 gr. de viande hâchée). Le repas au citobaryum est liquide et traverse par conséquent le tube digestif bien plus rapidement que le repas *solide* composé de bismuth et viande. L'observation combinée du *contenu* et de la *surface* de l'intestin nous permettait de résoudre sur l'animal — quasi normal — un certain nombre de problèmes physiologiques et pharmacodynamiques, jusqu'alors difficilement accessibles à l'expérimentation. Par exemple, était-il possible de distinguer si une excitation péristaltogène du gros intestin était provoquée *directement* par le contact du purgatif avec le côlon, ou si elle l'était par un *réflexe à distance* (gastro-colique p. ex.). En outre pouvait-on déterminer le temps qui s'écoulait entre le premier contact de la muqueuse colique avec le purgatif et l'excitation du péristaltisme *(temps de latence colique)*. Pour mieux distinguer à quelle partie du côlon visible à la fenêtre, appartenait une ombre bismuthée, nous avons marqué le bord de la fenêtre et

parfois aussi la situation de l'organe en question, avec un fil de plomb. Cela nous était particulièrement utile pour identifier le caecum et pour noter exactement le moment de la première apparition du contenu purgatif dans le côlon. *(Début de la réplétion colique).*

6. Observation continue à la fenêtre.

Le grand avantage qu'offre la fenêtre sur la radioscopie est de permettre une observation continue durant plusieurs heures consécutives ou même une journée entière. Pour pouvoir comparer l'aspect de l'intestin à l'état normal et sous l'action des purgatifs, nous avons procédé comme suit : chaque animal muni d'une fenêtre, était préalablement observé au cours d'un passage normal, c.-à-d. durant la journée suivant l'ingestion d'un repas de bismuth ou de *baryum sans purgatif.* Puis l'observation des mouvements intestinaux à la fenêtre fut effectuée d'une façon *ininterrompue* durant 10 à 11 hs. sauf le temps des radioscopies, intercalées toutes les heures environ. Tous les mouvements coliques apparaissant à la fenêtre étaient notés, décrits en détail, et la plus grande partie décalquée.

Quelques jours plus tard, nous soumettions le même chat à *une expérience de purgation,* en donnant comme précédemment un repas de bismuth ou citobaryum, mais mélangé à un purgatif. Nous poursuivions ensuite l'observation exactement comme pendant la « journée normale » ; lorsque l'action du purgatif se prolongeait, nous la continuions le jour suivant. Ainsi la comparaison entre le péristaltisme normal et le péristaltisme de purgation s'établissait sur le même animal dans des conditions identiques.

7. Problèmes physiologiques.

Nous nous sommes livrés tout d'abord à l'étude détaillée des mouvements intestinaux du chat fenêtré à *l'état normal,* car cette étude, comme nous le verrons, était incomplète jusqu'ici. Malgré les admirables recherches radiologiques de CANNON, bien des points de la motricité normale, du côlon surtout, restaient inconnus. Or, pour comprendre le mécanisme péristaltique de la purgation, il était indispensable d'acquérir une connaissance exacte des *formes* et de la *fréquence* des mouvements du côlon normal.

La radioscopie, comme nous l'avons déjà dit, ne permettait guère de voir le péristaltisme, mais seulement d'en constater les effets. L'analyse radioscopique des formes normales des mouvements coliques était donc insuffisante. Par le procédé radiologique une plus grande incertitude régnait encore en ce qui concernait la fréquence de chacun des mouvements coliques, au cours d'une journée. Étant donné le danger des longues expositions aux rayons X, la

radioscopie ne permettait que de saisir des *images courtes et espacées*. Les longs espaces non observés devaient être reconstitués par analogie. La fenêtre, par contre, nous renseignait exactement, *par une observation directe, sur tous les mouvements coliques durant une journée*. Cette différence essentielle des procédés d'observation explique certaines divergences de vue qui surgiront au cours de notre exposé entre les conceptions de CANNON et les nôtres au sujet de la motricité normale du côlon.

—

III. — Motricité normale de l'intestin grêle du chat fenêtré

LES DIFFÉRENTES FORMES DES MOUVEMENTS DU GRÊLE.

P. CARNOT et R. GLÉNARD, grâce à leur méthode de la circulation artificielle, ont fait une étude approfondie de toutes les formes de mouvements intestinaux chez le lapin. Une analyse semblable par l'observation directe n'a pas encore été entreprise sur le chat, bien que son intestin présente une analogie beaucoup plus grande avec celui de l'homme. Nos connaissances des mouvements intestinaux du chat à l'état normal, viennent essentiellement des recherches radiologiques classiques de CANNON.

Selon KATSCH et mes observations à la fenêtre abdominale, la forme normale des mouvements de l'intestin grêle est représentée chez le lapin par les mouvements pendulaires longitudinaux.

Chez le *chat*, les contractions rythmiques *circulaires* constituent le mouvement habituel. Cependant, en suivant minutieusement les contractions circulaires, on les voit se combiner fréquemment avec de faibles contractions longitudinales. En observant les anses grêles à la fenêtre, nous sommes frappés par l'apparence de *chapelets* que ceux-ci revêtent fréquemment durant leur contraction ; cet aspect de chapelet nait de deux formes de contraction de brassage différentes que nous allons analyser séparément : 1° les contractions annulaires pendulaires; 2° les contractions annulaires combinées, pendulaires et péristaltiques.

A. Mouvements de brassage.

1° CONTRACTIONS ANNULAIRES PENDULAIRES (ANNEAUX SANS PROGRESSION).

MAGNUS définit les contractions pendulaires comme étant des contractions rythmiques, qui se succèdent à intervalles réguliers sans montrer de propagation. Ces mouvements peuvent se produire

uniquement dans les fibres longitudinales ou dans les fibres circulaires, ou encore simultanément dans les deux couches (observation de MAGNUS sur l'intestin grêle isolé du chat.)

Décrivons maintenant ce mouvement pendulaire des *fibres* circulaires, si fréquent chez le chat fenêtré. Dans une anse grêle nous voyons une série de contractions annulaires, distantes les unes des autres de ½ à 2 cm. se produire simultanément. Ces multiples anneaux de contraction séparés par de petites zones non contractées, donnent à l'anse un *aspect de chapelet*. A peine formés, ces anneaux se relâchent sur place et ne montrent aucune *progression*. Le même jeu se répète régulièrement et longtemps, mais à chaque nouvelle série de contraction, les anneaux changent légèrement de place, de sorte que finalement tous les points d'une anse ont participé aux contractions.

Dans une anse nous comptons en moyenne 14 séries d'anneaux en 1 minute, mais la fréquence et l'amplitude des contractions peuvent varier. La longueur d'un anneau est de 1/4 à 1/2 cm.

2° CONTRACTIONS COMBINÉES PENDULAIRES ET PÉRISTALTIQUES, ANNEAUX A COURTE PROGRESSION, (*voir fig. I, p., 127 péristaltisme de brassage*).

A l'état normal, cette forme est plus fréquente que la précédente. Voici comment elle se présente : dans une anse grêle nous voyons apparaître presque simultanément toute une série d'anneaux de contraction, mais qui cette fois *se propagent tous rapidement à* 1/4-1/2 cm. quelquefois à 1 cm. de distance, puis s'arrêtent et se relâchent aussitôt.

Ce même jeu peut se répéter plus ou moins longtemps, dans une anse d'une façon rythmique. Nous retrouvons durant la phase contractée de l'anse l'aspect de chapelet décrit précédemment.

Les contractions décrites plus haut expliquent les silhouettes observées à l'ombre-bismuth par CANNON dans ses fameuses recherches radioscopiques sur l'intestin grêle du chat. Les « *rythmic segmentations* » de cette ombre décrites par CANNON correspondent à nos *images de chapelet* et peuvent donc être engendrées par les deux formes de contractions de brassage, observées à la fenêtre. On remarque toutes les *formes de passage entre le péristaltisme rythmique* à courte progression et les contractions pendulaires annulaires. En d'autres mots : la progression des anneaux de contraction du grêle peut varier graduellement de 0 à 1 cm. et plus. Des anneaux rythmiques stationnaires peuvent alterner dans la même anse avec des anneaux rythmiques à courte progression.

La *fréquence* de ces deux formes de mouvements est ordinaire-

ment la même : 14 à 15 contractions à la minute. Sous l'influence des purgatifs, la fréquence s'élève à 18 ou 20 voire même 30. La *profondeur* de ces ondes c.-à-d. l'intensité de la contraction varie beaucoup. Selon le degré d'excitation on voit se produire soit des anneaux tout à fait superficiels, soit des anneaux très profonds qui resserrent alors complètement l'intestin. La *vitesse de propagation* varie parallèlement. La *fonction des mouvements annulaires péristaltiques à faible progression* (de 0,1 à 1 cm.) semble être la même que celle des mouvements annulaires pendulaires sans progression : fonction de brassage. Nous parlerons aussi de *péristaltisme de brassage* pour désigner les anneaux à courte progression. Celui-ci peut se transformer graduellement en *mouvement propulseur* plus ou moins efficace, au fur et à mesure que les anneaux dépassent leur longueur de propagation habituelle, qui est de 0,1 à 1 cm.

B. Mouvements péristaltiques propulseurs de l'intestin grêle.

On retrouve à la fenêtre un fait déjà constaté par CANNON aux rayons X : à savoir que les mouvements de brassage s'observent beaucoup plus fréquemment que les mouvements nettement propulseurs ; parmi ces derniers nous classerons uniquement les ondes péristaltiques d'une longueur de propagation dépassant 1 cm., les ondes plus courtes déterminant plutôt le brassage que la progression. La rareté des mouvements péristaltiques nettement propulseurs se rapporte à l'iléon dont les anses sont ordinairement visibles à la fenêtre. Elle explique la lenteur relative de la progression du contenu dans cette région.

Les *purgatifs anthraquinoniques* augmentent la fréquence des ondes péristaltiques à long trajet, ainsi que leur longueur de propagation. Il est donc probable, que, pour susciter leur déclanchement dans une anse grêle, à l'état normal, il faut une excitation plus forte de la part du contenu intestinal que pour les mouvements de brassage. On ne remarque jamais chez le chat des ondes péristaltiques se propageant rapidement sur plusieurs anses (« rushing peristalsis » de MELTZER et AUER).

Exemple 1 : *Progression d'un bol sous l'action d'ondes répétées.* — La progression normale du contenu du grêle peut s'effectuer par des ondes péristaltiques, dont la longueur de propagation ne dépasse guère quelques centimètres, comme le montre l'observation suivante :

Nous avons parfois eu l'occasion de suivre sur un chat fenêtré le mécanisme de la progression d'un bol de bismuth, visible à travers la paroi d'une anse grêle. En amont du bol nous avons vu surgir des ondes péristaltiques, se propageant sur une longueur de plusieurs centimètres, et s'élancer à courts intervalles rythmiques contre la partie supérieure du bol, en roulant insensiblement celui-ci comme les vagues charrient une pierre. Le bol, d'un volume considérable, était chassé en avant par les propulsions répétées d'un grand nombre d'ondes rythmiques revenant sans cesse à l'assaut. L'anse une fois vide, restait immobile et dilatée pendant un temps assez long.

TRANSMISSION DISCONTINUE DES ONDES PÉRISTALTIQUES. (par réflexe à distance?).

Observation assez fréquente et qui jette quelque lumière sur la *corrélation* qui existe entre le *péristaltisme de différents* segments voisins. A l'extrémité supérieure d'une anse, on voit apparaître une onde péristaltique, qui se propage à une distance de 2 à 3 cm. Soudain elle s'arrête, se relâche et disparaît. Aussitôt une seconde onde, qui semble poursuivre la tâche de la précédente, naît à 1 cm. en aval du point d'arrêt de la première. Elle s'avance sur une distance de 2 à 3 cm., s'arrête et disparaît à son tour. Instantanément elle engendre une troisième onde, qui, de même prend son point de départ 1 cm. plus bas. Il semblerait que *l'onde contractile* tout en se propageant, *saute* tous les 3 cm. un espace d'environ 1 cm. qui reste dilaté et que l'onde paraît traverser sans y provoquer de contraction. Nous supposons que le phénomène observé révèle un reflexe *à distance*, qui *transmet et coordonne le péristaltisme de différents segments grêles successifs* ; mais nous ignorons si ce réflexe est déclanché par le système nerveux extra ou intra-intestinal.

PÉRISTALTISME TUBULAIRE DE L'INTESTIN GRÊLE. (*Modification tonique-spasmodique*), voir fig. II, schéma, page 127.

Cette forme de contraction péristaltique ne s'observe pas à l'état normal, mais seulement sous l'influence des purgatifs anthraquinoniques (Séné). Au lieu des anneaux de contraction rythmiques normaux on voit apparaître des constrictions péristaltiques larges, formant des cordes ou des tubes rigides fortement rétrécis et souvent ischémiques. C'est qu'un élément *tonique* est venu transformer le caractère purement rythmique des contractions normales. La longueur de propagation de ce péristaltisme tubulaire est en moyenne plus grande que celle du péristaltisme annulaire normal, mais la progression est plus lente. Ces mouvements sont décrits en détail dans le chapitre des purgatifs, voir le résumé : séné, sennatine, émodine. En somme le séné déclanche dans le grêle le même péristaltisme tubulaire *semi-tonique* et *semi-rythmique* que dans le gros intestin et c'est pourquoi nous y reviendrons encore plus loin.

C. Influence du jeûne et des repas sur les mouvements de l'intestin grêle.

1° MOUVEMENTS DE L'INTESTIN VIDE..

Lorsque, chez le chat fenêtré, l'intestin grêle au contrôle radioscopique est à l'état de complète vacuité, il présente encore des mouvements périodiques modérés : soit des contractions de brassage, soit du péristaltisme à progression plus notable. Ces contractions se produisent également lorsque l'animal est à jeûn depuis longtemps. L'automatisme des plexus myentériques seul, peut donc, indépen-

damment du contenu, entretenir des mouvements. Mais il y a alors de longues périodes de repos, et l'intensité des mouvements n'est jamais considérable.

2° Excitation pendant la période digestive.

L'état de plénitude de l'estomac — avant que celui-ci commence à se vider — excite les mouvements de l'intestin grêle par un « réflexe coordinateur à distance ». (Voir le chapitre y relatif). Plus tard s'ajoute l'excitation directe qui devient de plus en plus forte, à mesure que l'intestin grêle se remplit. Par ex. : on comptait sur la même anse, 15 ondes de brassage par minute avant le repas et l'on en compte 22, une demi-heure après. Le *lait* stimule les mouvements de l'intestin grêle beaucoup plus que la viande, bien qu'il soit un aliment moins consistant.

3° Alternance périodique d'activité et de repos dans une anse grêle.

Ce phénomène s'observe difficilement pendant la période d'évacuation gastrique et lors du passage du contenu à travers le grêle, car les anses grêles visibles à la fenêtre sont alors généralement dans un état d'activité continuelle, mais en dehors de cette période l'alternance devient un phénomène constant. La durée relative et absolue des périodes actives est très variable. Ce phénomène d'alternance s'observant aussi chez l'animal à jeûn, il doit avoir des causes endogènes (changements périodiques de l'excitabilité des plexus d'Auerbach).

—

IV. — La motricité normale du côlon chez le chat fenêtré.

Nos conceptions actuelles des mouvements physiologiques du gros intestin se basent essentiellement sur les recherches radioscopiques bien connues que le physiologiste américain Cannon a entreprises sur le chat. Rappelons brièvement les observations de cet auteur et les idées qu'il a émises à ce sujet. Il distingue au côlon du chat deux segments ayant une fonction motrice différente : le côlon proximal et le côlon distal. La partie supérieure ou proximale, comprend les côlons ascendant et transverse et a pour fonction de retenir et de solidifier les aliments venant du grêle. D'après Cannon les mouvements antipéristaltiques réguliers et fréquents dans cette région, seraient la cause essentielle de la rétention du contenu intes-

tinal. La partie inférieure ou distale, (côlon descendant et sigmoïde), se charge de transporter vers le rectum le bol fécal déjà solidifié dans le segment proximal.

D'après CANNON l'antipéristaltisme ferait défaut dans le segment distal, dont la forme caractéristique de mouvement serait les anneaux toniques. Il remarquait souvent un anneau tonique de longue durée séparant distinctement les deux segments décrits. Le déclanchement des mouvements antipéristaltiques dans le côlon semble, d'après CANNON, dépendre de l'afflux des aliments qui passent de l'intestin grêle dans le côlon. Aussitôt après l'arrivée de la pâte bismuthée dans le côlon ascendant, ce dernier augmente la tonicité, et le contenu est saisi par les ondes antipéristaltiques partant de l'extrémité inférieure de l'ombre colique et se dirigeant vers le caecum avec une fréquence de 5 ½ ondes par minute. Ces ondes semblent, toujours, d'après CANNON, prendre comme point de départ un anneau tonique du côlon transverse. Il estime que la région de ces ondes se trouve toujours en amont de l'anneau tonique, c.-à-d. dans la direction coecale, supposition que nos recherches à la fenêtre abdominale n'ont pas pu confirmer.

FORMES TYPIQUES DES MOUVEMENTS DU CÔLON.

A. MOUVEMENTS DE RÉTENTION.

1. ANTIPÉRISTALTISME

2. ANNEAUX TONIQUES.

Les observations à la fenêtre abdominale nous permettent d'admettre que l'antipéristaltisme et les anneaux toniques ont une grande parenté fonctionnelle. Ces deux mouvements ont pour effet principal de ralentir la progression des aliments (mouvements de *rétention*) et par cela ils se distinguent nettement d'un autre groupe de mouvements coliques, des *mouvements de propulsion.*

1. Antipéristaltisme.

ASPECT, FRÉQUENCE, PROPAGATION.

CANNON a tracé un tableau radioscopique de l'antipéristaltisme du côlon de chat qui se distingue par sa régularité et sa simplicité. Ce qui m'a frappé, en observant ces mêmes mouvements à la fenêtre, ce fut au contraire l'irrégularité considérable de l'antipéristaltisme, qui semblait obéir à des lois complexes quant à son apparition. Placés dans les mêmes conditions, certains animaux manifestent plus rarement que d'autres de l'antipéristaltisme. La Fig. A 2 montre l'aspect

typique que les ondes antipéristaltiques normales présentent, à la fenêtre. Cette dernière a été relevée 2 heures après l'ingestion de bismuth et de viande. Nous voyons des *ondes de contraction profondes* qui partent du transverse et aboutissent au caecum. Elles se succèdent en un rythme régulier, à raison de 6 par minute et progressent avec la vitesse habituelle des ondes de l'estomac. La période d'activité rythmique se prolonge pendant 2 min. et est suivie d'une longue *période de repos*. Les fig. E1, E2 et E5, dessinées après l'ingestion d'émodine de B., nous montrent quelques variations de l'antipéristaltisme, que l'on rencontre également à l'état normal.

L'activité antipéristaltique d'un segment colique est souvent précédée et accompagnée d'une *augmentation* de sa *tonicité* : le segment diminue de calibre et acquiert une « *hypertonie cylindroïde* » qui persiste durant toute la période de l'activité rythmique. (Voir fig. E5, E4, et F1.) Chez le chat normal fenêtré, le côlon présente des périodes d'antipéristaltisme bien moins fréquentes qu'on ne l'aurait supposé à la suite des indications radiologiques de CANNON. Des périodes antipéristaltiques de courte durée sont, même pendant la digestion, généralement suivies de *longues périodes de repos*, qui varient d'½ h. à 2 h. Les ondulations antipéristaltiques superficielles se rencontrent plus fréquemment que les ondes à sillons profonds, décrites précédemment. Ces ondulations sont souvent si légères, qu'elles ne se dessinent que d'un côté du côlon, sur le bord interne ou le bord externe (voir fig. B7 et E18).

La *fréquence* des ondes antipéristaltiques, c.-à-d. le nombre des contractions, passant un point défini, est en moyenne de 5 à 6 par min. plus rarement de 7, ce qui corrobore les examens radiologiques de CANNON. Le trajet parcouru par ces ondes, atteint sa longueur maxima dans le côlon ascendant et diminue sensiblement de haut en bas. Dans le côlon descendant les ondes se propagent rarement à une distance de plus d'un centimètre.

A l'encontre de CANNON j'ai vu apparaître des ondes antipéristaltiques dans toutes les *parties du côlon*, visibles dans la fenêtre ; donc également dans le côlon descendant et l'anse sigmoïde, régions que CANNON supposait exemptes d'antipéristaltisme. Cependant dans la moitié distale, l'antipéristaltisme devient plus rare et plus faible. RIEDER a démontré, à l'aide de la radiographie, que chez l'homme le mouvement rétrograde se rencontre dans tous les segments du côlon, ce qui concorderait avec nos observations sur le chat fenêtré.

RÔLE PHYSIOLOGIQUE DE L'ANTIPÉRISTALTISME.

L'antipéristaltisme est un des mécanismes qui servent à la *rétention des aliments* dans le côlon. Les autres facteurs qui assurent la rétention et par là l'empâtement du chyme, sont les anneaux de constriction tonique et les longues périodes d'inactivité.

Une autre fonction de l'antipéristaltisme, d'ordre secondaire, est celle du *brassage* des matières intestinales, ce qui facilite encore la résorption. Cette action est comparable à celle des mouvements pendulaires de l'intestin grêle.

Corrélations entre l'antipéristaltisme et les anneaux toniques.

On constate fréquemment qu'une zone d'activité antipéristaltique s'établit dans le voisinage immédiat d'un anneau tonique, précurseur ; dans d'autres occasions on voit alterner dans le même segment l'une et l'autre forme de mouvement. Au point de vue fonctionnel, ces deux formes de contraction colique sont étroitement liées.

Elles produisent le même effet : la rétention. On peut supposer une corrélation intime entre les ondes antipéristaltiques et les anneaux toniques. L'antipéristaltisme semble dériver des anneaux. Il représente le même *mécanisme de rétention* sous une forme plus prononcée. D'après CANNON les ondes antipéristaltiques auraient toujours leur origine dans un anneau à pulsations rythmiques (Anastalsis). J'ai parfois observé à la fenêtre la transformation lente d'un anneau rétrograde solitaire, en une suite d'ondes antipéristaltiques rythmiques. (Voir fig. F1.) La même transition s'observe d'ailleurs entre anneaux propulseurs et ondes péristaltiques antérogrades. (Voir fig. E31 et E32.)

ZONE ANTIPÉRISTALTIQUE EN AVAL DE L'ANNEAU TONIQUE.

(ZONE D'ANTIPÉRISTALTISME DISTALE).

CANNON, en faisant ses radioscopies, ne voyait apparaître des ondes antipéristaltiques que du côté caecal d'un anneau tonique, *jamais* du côté anal. La cause finale paraissant évidente dans ce phénomène, il en a généralisé *l'importance*. A la fenêtre abdominale, au contraire, les ondes antipéristaltiques apparaissent bien plus souvent en aval d'un anneau tonique, c. à d. dans le segment *immédiatement* sous-jacent à l'anneau. On trouvera à ce sujet de nombreux exemples typiques dans mes protocoles d'expérience et les figures (Voir fig. E4 et E8 p. ex.).

Voici comment se présente ce phénomène : supposons un anneau tonique qui vient de se former à un endroit quelconque du côlon. Nous voyons alors fréquemment des ondes antipéristaltiques naître 1 ou 2 centimètres en aval de l'anneau et venir se briser contre ce dernier, qui semble leur bloquer la voie. Nous savons, grâce aux recherches de CANNON, que les anneaux toniques présentent le phénomène bien connu de la *période réfractaire*, c. à d. que la région contractée subit une diminution considérable de son excitabilité, ce qui

explique le blocage des ondes. Il est possible qu'un semblable blocage d'ondes péristaltiques véritables joue un rôle dans le mécanisme de la *constipation spasmodique*, où les anneaux toniques ont une fréquence et une intensité exagérées. Il arrive pourtant, rarement il est vrai, que les ondes antipéristaltiques traversent la région d'un anneau tonique sans se perdre et continuent à cheminer au delà de celui-ci. Mais dans ce cas elles deviennent extrêmement faibles.

La signification de l'antipéristaltisme *en aval de l'anneau* tonique n'est pas connue, généralement on rencontre dans ce phénomène des ondes peu profondes et peu énergiques. L'interprétation qui paraît la plus plausible est que l'action combinée de ces ondes avec l'anneau, représente un *mécanisme de brassage*. J'ai encore observé le phénomène suivant (fig. A6, A7, E14) : le contenu d'un segment colique est retenu et fixé entre deux anneaux toniques persistants, qui l'enferment comme en un sac, dans lequel il est brassé par des ondes antipéristaltiques, cheminant entre ces deux anneaux.

RÉPLÉTION COLIQUE ET ANTIPÉRISTALTISME.

N'ayant jamais observé de mouvements antipéristaltiques dans le côlon vide, ce qui était d'ailleurs impossible au moyen des rayons X, CANNON admettait que ceux-ci étaient uniquement déclanchés par *l'afflux des aliments* venant de l'intestin grêle. Toutefois à ce sujet nos observations à la fenêtre abdominale nous obligent à faire certaines réserves. La genèse de l'antipéristaltisme ne dépend pas uniquement du contenu colique, mais doit être interprétée d'une manière plus complexe. L'automatisme des plexus d'Auerbach y joue un rôle (voir aussi le chapitre irritabilité.) Citons ici seulement quelques observations qui montrent l'indépendance relative de l'antipéristaltisme vis-à-vis du contenu colique :

ANTIPÉRISTALTISME DU CÔLON A L'ÉTAT DE VACUITÉ LORSQUE L'ANIMAL EST GARDÉ A JEÛN.

Quant à l'importance théorique de ces observations voir le chap. « irritabilité ».

Exemple 1 : *Antipéristaltisme du côlon vide.* — Un chat fenêtré, gardé à jeun depuis 18 heures. Le côlon avait évacué, entretemps, tout son contenu par deux selles abondantes. — Malgré cela, on remarquait encore, dans le côlon vide, des ondes antipéristaltiques typiques.

Exemple 2 : *Antipéristaltisme du côlon vide, stimulation par le réflexe gastro-colique.* Soit un autre chat gardé à jeun, 24 h. après un repas baryté. Ainsi qu'en témoignait la radioscopie, le côlon avait expulsé tout le contenu baryté et était par conséquent complètement vide. Malgré cela on voyait appparaître à la fenêtre, plusieurs périodes d'ondes antipéristaltiques plutôt superficielles dans le transverse. Après ½ heure d'observation continue, l'animal reçoit un repas ordinaire de viande. Une demi-heure plus tard, l'antipéristaltisme du côlon vide est sensiblement stimulé. Nous en attribuons

le cause à l'influence du réflexe gastro-colique. Les ondes du côlon ascendant sont plus fréquentes et plus marquées après le repas qu'avant. Grâce au contrôle radiologique, nous avons pu nous assurer que dans cette phase de stimulation réflexe, la plus grande partie du repas était encore retenue dans l'estomac et que seule une petite partie se trouvait dans l'intestin grêle. Trois heures plus tard les aliments arrivent au côlon.

Exemple 3 : *Antipéristaltisme du côlon vide, stimulé par le réflexe gastro-colique.*

Un chat fenêtré a reçu son dernier repas (bismuth et viande) 24 heures avant l'observation. A l'aide d'un lavement on a d'abord débarassé le côlon du bismuth qui s'y trouvait encore. L'examen radioscopique nous montre alors le côlon en état de complète vacuité. Durant la première heure d'observation on voit à la fenêtre une hypertonie considérable du côlon, mais aucun mouvement antipéristaltique ou autre. Sur ce, le chat reçoit un repas de viande et un quart d'heure après, on voit des ondes antipéristaltiques à la fenêtre. Elles apparaissent d'abord dans l'ascendant sur un court trajet de façon peu énergique, 1/4 d'heure plus tard, nouvelle période d'ondes antipéristaltiques dans l'ascendant. Suit une période de repos de 20 min. puis une longue reprise d'activité de l'ascendant qui débute par une hypertonie cylindroïde persistante. Enfin naissent des ondes antipéristaltiques énergiques qui partent du transverse, courant continuellement à travers l'ascendant pour aboutir au caecum.

Antipéristaltisme du côlon en réplétion, mais en dehors de la période digestive.

Des ondes antipéristaltiques surviennent alors souvent dans le côlon en état de plénitude, sans qu'il y ait aucune possibilité de stimulation par *l'afflux* des aliments venant du grêle : l'examen radioscopique, combiné avec l'observation à la fenêtre, révèlait des périodes d'antipéristaltisme dans le côlon, alors même que l'intestin grêle était complètement vide. Les ondes étaient généralement profondes dans l'ascendant, où elles effectuent un long trajet, tandis que dans le descendant leur trajet se raccourcit et elles se transforment en léger mouvement ondulatoire. Dans ce cas le réflexe gastro-colique déclanché par la réplétion de l'estomac, avait aussi une influence marquée sur l'antipéristaltisme colique.

Les mouvements rétrogrades du côlon humain.

En collaboration avec von Bergmann, nous avons vu directement sur l'écran, le contenu du côlon humain normal se mouvoir en arrière sur un trajet considérable, en un seul mouvement brusque. (Deutsch. Med. Wochenschr. 1911). Plus tard j'ai relaté en détail (Arch. f. Verdauungskrankh. 1919), le mécanisme de ce mouvement rétrograde qui se distingue de celui du chat en ce sens que je n'ai jamais vu, à l'écran, se produire des ondes antipéristaltiques chez l'homme. Le transport rétrograde porte — chez l'homme — sur une portion considérable du contenu colique qui est p. ex. soudainement jeté du transverse dans l'ascendant. Le mécanisme de ce recul semble reposer sur la formation de ces larges *contractions tubulaires toniques*, que nous avons pu déceler à la fenêtre du chat parmi les mouvements

propulseurs. Mes observations m'ont amené à conclure que la motricité du côlon humain est adaptée avant tout à la fonction de rétention, et ceci à un degré encore plus prononcé que chez le chat. Comme chez ce dernier trois facteurs attestent chez l'homme la *fonction de rétention* du côlon :

1° Les grands mouvements rétrogrades périodiques.

2° Les anneaux de constriction tonique (barrières).

3° Les longues périodes d'inactivité colique.

La fin de cette longue rétention des matières apparaît chez l'homme dans plusieurs circonstances ; entre autre dans la digestion des membranes cellulosiques des légumes, effectuée à l'aide des bactéries, dont le développement est assuré par la longue stagnation colique.

RIEDER a confirmé notre manière de voir en démontrant que le mouvement rétrograde est un phénomène physiologique fréquent dans le côlon humain. Il a suivi le passage colique d'un repas bismuthé chez l'homme en procédant à des radioscopies toutes les ½-1 h^{re}, et ce, pendant 48 heures. En examinant ses plaques, il a constaté que la progression du contenu colique est périodiquement retardée par des poussées rétrogrades. Celles-ci semblent s'établir à de longs et réguliers intervalles dans tous les segments du côlon humain.

2. Les anneaux de constriction tonique.

" Anneaux Toniques. "

Ce sont des constrictions profondes, très souvent de vrais étranglements, qui se produisent sous forme d'anneaux de rétrécissement plus ou moins larges, qui persistent pendant 1 à 10 minutes sur un point fixe, ou se meuvent légèrement en arrière, formant une sorte de *barrière* à la progression du contenu colique. C'est la forme de contraction colique qui se voit le plus fréquemment à la fenêtre, chez le chat normal. — Exemple : la fig. A8 montre un cas typique. Nous voyons s'établir simultanément trois anneaux de constriction tonique dans l'ascendant et le transverse. Leur *largeur* varie entre 1/4, 1/2 ou 3/4 de cm. L'étranglement dans la zone contractée est si énergique, que la lumière colique y a disparu. Les deux anneaux inférieurs demeurent sur un point pendant plusieurs minutes, *(anneaux fixes)*, tandis que l'anneau supérieur rétrograde très lentement sur un trajet de 3/4 de cm. *(anneau rétrograde)*.

Les propriétés les plus remarquables de ces anneaux toniques sont :

1° La contraction limitée à une zone étroite. (Rétrécissement annulaire).

2° La tendance à un état de *contraction tonique*, c. à d. que le degré de contraction une fois atteint, persiste durant quelques minutes.

ANALOGIE ENTRE LES MOUVEMENTS PENDULAIRES ANNULAIRES DE L'INTESTIN GRÊLE ET LES ANNEAUX DE CONSTRICTION TONIQUES DU CÔLON.

Comme le fait remarquer ARTHUS dans son Précis de Physiologie, les mouvements pendulaires de l'intestin grêle retardent la progression des matières. C'est aussi, comme nous l'avons décrit, la fonction capitale des anneaux toniques du côlon qui constituent un *mécanisme de barrage*. La genèse de ces deux mouvements présente d'ailleurs des analogies intéressantes. Nous pouvons faire un rapprochement entre la contraction tonique, fréquente dans le côlon, et la forme annulaire rythmique que l'on a trouvé si souvent dans l'intestin grêle. Supposons que les anneaux de contraction de l'intestin grêle normal, au lieu de se former et de se relâcher alternativement d'une façon rythmique, deviennent persistants et prennent ainsi un caractère tonique, (ce qui s'observe d'ailleurs sous l'influence du séné), nous aurions alors dans le grêle des anneaux semblables à ceux du côlon. Remarquons encore que dans l'intestin grêle normal, le caractère rythmique des mouvements pendulaires se combine de plus en plus à un élément tonique au fur et à mesure que l'on se rapproche du côlon.

ANNEAUX A PULSATIONS RYTHMIQUES, DE CANNON.

Cette variation des anneaux de constriction du côlon confirme encore cette analogie entre ce mouvement du côlon et les mouvements pendulaires annulaires de l'intestin grêle. Il est fréquent de voir à la fenêtre, en un endroit quelconque du gros intestin, un anneau de constriction, solitaire, manifestant des *pulsations rythmiques*. Dans ce cas, la contraction se relâche aussitôt formée et se renouvelle rythmiquement sans changer de place durant quelques minutes. Ce sont les *pulsating rings* que CANNON a pu provoquer en appliquant une goutte de solution de $BaCl_2$ sur un point de la surface du côlon mis à nu. Une différence essentielle consiste en ce que l'intestin grêle produit simultanément, en un segment donné, quatre à six foyers de contractions rythmiques, voisins les uns des autres, tandis que le côlon ne produit ordinairement qu'un seul foyer de pulsation.

PROPRIÉTÉS DES ANNEAUX TONIQUES.

La *largeur* des anneaux de constriction toniques varie, en général elle ne dépasse guère 1/4 à 1/2 cm.; cependant elle peut atteindre 1 ou 2 cm. ce qui donne lieu à une forme de passage : *les petits cylindres de contraction tonique. La profondeur*, c. à d. la force de contraction des anneaux toniques, est encore plus variable. Nous rencontrons tous les degrés entre le sillon à peine perceptible et l'étranglement maximum, qui rend la zone contractée fortement *ischémique*. Le plus souvent on ne voit se produire, sur le côlon entier, *qu'un seul* anneau, quelquefois deux, trois ou davantage encore. La *durée* de ces contractions est en général de 1 à 2 minutes, quelquefois de 3 à 5 minutes, parfois de 10 minutes.

RÉPARTITION RÉGIONALE DES ANNEAUX TONIQUES.

CANNON admettait que le côlon proximal était exempt d'anneaux de constriction toniques, ce qui lui semblait garantir le libre parcours

de l'antipéristaltisme. J'ai cependant constaté la présence d'anneaux toniques dans chaque région du côlon normal, *même dans l'ascendant* ; mais ils sont pourtant plus fréquents dans la moitié distale. La séparation fonctionnelle strictement établie par CANNON, entre le côlon proximal, région réservée à l'activité antipéristaltique, et le côlon distal, région exclusive des anneaux toniques, ne peut être prise dans un sens absolu. Les deux zones fonctionnelles se superposent, et tout ce que l'on peut affirmer, c'est que dans la région proximale, l'antipéristaltisme est plus marqué que dans la région distale et que les anneaux toniques apparaissent partout, mais sont plus rares dans l'ascendant qu'ailleurs.

PROPAGATION DES ANNEAUX DE CONSTRICTION.

a) ANNEAUX FIXES ET RÉTROGRADES.

Ordinairement les anneaux toniques ne changent pas de place c'est le cas tout au moins chez l'animal normal. *(Anneaux fixes)*. Cependant il n'est pas rare de les voir migrer légèrement en arrière, ce déplacement s'effectuant très lentement sur une distance de 1/2 à 1 cm., exceptionnellement de 2 cm. *(Anneaux rétrogrades)*.

b) ANNEAUX TONIQUES ANTÉROGRADES OU PROPULSEURS.

Ces anneaux de constriction profonds, se dirigeant plus ou moins rapidement vers la région anale, jouent un rôle important dans le mécanisme de la purgation. Chez l'animal normal, *la vitesse* et la longueur de propagation des anneaux propulseurs, dépendent du *régime* alimentaire. Si l'on ajoute du lait à un régime carné, les selles deviennent plus molles. Tous les mouvements propulseurs sont alors augmentés et l'on rencontre fréquemment des anneaux de constriction se propageant vers le bas, sur une distance de 1 à 2 cm., avec une vitesse modérée. Chez le *chat constipé* par un régime exclusivement carné, on ne constate que très rarement des anneaux ayant une propagation antérograde marquée. Mais en observant à la fenêtre les anneaux d'une façon suivie, on remarque cependant assez souvent une progression extrêmement lente qui s'étend à 2 cm. au plus. Il est probable que ces anneaux propulseurs, faibles et lents, jouent un rôle dans la progression lente et continue des matières.

CORRÉLATIONS ENTRE LES ANNEAUX TONIQUES ET D'AUTRES FORMES DE CONTRACTIONS.

Leur corrélation avec l'antipéristaltisme a été traitée dans le chapitre se rapportant à ce dernier. Mentionnons encore ici les états de transition qu'on rencontre entre les anneaux de constriction toniques et les larges contractions toniques tubulaires. En outre un anneau tonique peut devenir le point de départ d'une onde de péristaltisme tubulaire.

Rôle fonctionnel des anneaux toniques (mécanisme de barrage.)

Les anneaux toniques sont des régulateurs de la vitesse du transit colique. Ayant une tendance rétrograde ou restant sur place, ils réalisent un *mécanisme de barrage* et retardent la progression du contenu *(fonction de rétention)*. Lorsque ces anneaux se mettent à avancer, comme c'est le cas sous le régime lacté ou sous l'influence du séné, ils deviennent propulseurs faisant progresser le chyme avec une vitesse exagérée, empêchant son *empâtement*. Le rôle des anneaux toniques à action propulsive faible, mais répétée, dans la progression du contenu colique sera discuté plus loin. Une fonction secondaire des anneaux toniques consiste dans le brassage du contenu.

Analogie avec les anneaux toniques du côlon humain.

J'ai démontré précédemment, à l'aide des rayons X, de même que Böhm, Rieder, Schwarz et d'autres, que des anneaux toniques de même nature que ceux décrits ci-dessus pour le chat fenêtré se produisent chez l'homme à l'état normal et dans certaines conditions pathologiques. Ces anneaux jouent chez l'homme le même rôle physiologique que je viens de mentionner pour le chat ; ils forment là aussi *un mécanisme de barrage*, qui assure la rétention du chyme. J'ai pu suivre chez l'homme, grâce à la radioscopie, une autre fonction des anneaux de constriction tonique dans le transport rétrograde du contenu colique. Lorsqu'une large contraction tubulaire tonique rejette le contenu en arrière, c'est parce qu'il est fait obstacle à la fuite des matières dans la direction anale, par un anneau tonique, situé au bout distal de la région en mouvement. Les *spasmes du côlon*, si souvent signalés en pathologie humaine, ne sont autre chose qu'une *forme exagérée* et par là souvent douloureuse, *des anneaux toniques* si fréquents dans le côlon normal.

B. PÉRISTALTISME PROPULSEUR DU COLON.

1. *Ondes annulaires propulsives ou antérogrades.*
2. *Péristaltisme tubulaire ou cylindroïde.*

Ces deux formes de mouvements sont très rares chez le chat normal soumis au régime carné et ayant des selles solides. Elles acquièrent par contre une importance capitale dans le péristaltisme de purgation.

1° Ondes péristaltiques annulaires propulsives (ou antérogrades).

Je ne les ai jamais observées chez le chat normal, mais uniquement sous l'influence des purgations. Ce sont les mêmes ondes de contraction annulaire, à succession rythmique, que celles décrites dans le chapitre de l'antipéristaltisme, mais cheminant cette fois de haut en bas, donc dans le sens antérograde.

Exemple : (voir fig. B2 et le chapitre : infusion de séné chat 19), 18 minutes après l'ingestion, le séné déclanchait, par voie réflexe gastro-colique, la première série *d'ondes propulsives*, rythmiques. Ces ondes encore faibles effectuent un court trajet. Après un long intervalle de repos, l'on voit dans la même région, ces ondes se répéter ou alterner avec des anneaux de constriction solitaires et propulseurs. En s'approchant du niveau du côlon, le séné renforce considérablement ces ondes propulsives. 1 h. 35, 1 h. 44 et 1 h. 55 après l'ingestion, nous voyons surgir des périodes actives qui durent de 1 à 2 min. et comprennent une série d'ondes annulaires profondes, courant du caecum au transverse et se succédant rythmiquement à de courts intervalles réguliers. Un autre exemple intéressant de la transition d'un anneau de constriction propulseur solitaire en une suite d'ondes propulsives rythmiques, se trouve sous le chap. émodine de bourdaine, voir fig. E 31 et E 32.

QUELLE DIFFÉRENCE Y A-T-IL ENTRE LES ANNEAUX PROPULSEURS ET LES ONDES PÉRISTALTIQUES VÉRITABLES.

Les anneaux propulseurs, décrits dans le chap. anneaux toniques, se distinguent des ondes péristaltiques antérogrades annulaires, par le fait que ces anneaux présentent une contraction solitaire. Les ondes propulsives, par contre, sont une suite de contractions annulaires se succédant rythmiquement (5 à 6 par min.) D'autre par la nature de la contraction diffère dans les deux cas, les anneaux propulseurs présentent un mode de contraction plus lente, plus tonique et plus intense.

2° Péristaltisme tubulaire ou cylindroïde du côlon.

Ce mouvement se rencontre rarement chez le chat normal, mais il est fréquent et très puissant sous l'influence de certains purgatifs, qui font de lui le phénomène fondamental de la purgation.

Définition. — Aspect typique.

Je désigne sous le nom de *péristaltisme cylindroïde ou tubulaire*, une onde de contraction colique qui débute souvent sous forme annulaire et se propage en général rapidement de haut en bas sur un trajet assez long, et qui transforme le segment colique parcouru en un cylindre pâle, fortement rétréci. Nous pouvons supposer que cette péristaltique tubulaire naît d'une onde de contraction annulaire dont le relâchement est retardé et que par suite les *portions parcourues persistent dans un état de contracture*. Ainsi s'expliquerait la genèse de ces cylindres ou tubes rigides qui présentent un aspect si caractéristique. La différence essentielle entre ces deux formes, de péristaltisme, annulaire et tubulaire, vient de ce que dans la forme tubulaire, *un facteur tonique*, parfois presque spasmodique, s'associe au caractère purement rythmique de la forme annulaire. Le péristaltisme tubulaire décrit ci-dessous manifeste souvent une association étroite entre une première onde de relâchement, et une seconde onde de contraction qui lui succède immédiatement ; propriété que BAYLISS et STARLING donnaient comme caractéristique de l'onde péristaltique véritable. On remarque, en effet, souvent une zone dilatée juste au-dessous de la zone contractée (voir fig. A 17, A 19).

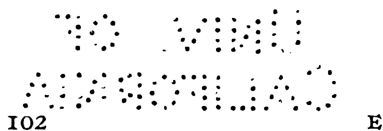
EXEMPLE DE GRAND PÉRISTALTISME TUBULAIRE.
(voir fig. B17 à B21).

Cette grande onde de péristaltisme cylindroïde se produit 5 h. 4' après l'ingestion d'une infusion de séné. La contraction débute au caecum et le transforme rapidement en un cylindre extrêmement rétréci, rigide et pâle. Puis l'onde de contraction se propage en aval, et dans l'espace d'une minute elle s'est étendue au côlon entier, y compris le sigmoïde. On remarque une zone de dilatation, qui précède immédiatement l'onde de contraction. Ce grand mouvement finit par transformer le côlon entier en un cylindre rigide, de calibre extrêmement rétréci. Au début, aussi longtemps que dure la contraction maximale, le côlon présente une pâleur cadavérique. Les fibres longitudinales se contractent en même temps que les fibres circulaires, de sorte que l'organe se raccourcit et descend vers le bassin.

Durant les deux minutes qui suivent l'onde, le gros intestin persiste dans un état de forte contracture tonique.

Variations du péristaltisme tubulaire.

D'autres exemples, qui illustrent quelques variations intéressantes du phénomène typique décrit, se trouvent dans nos protocoles et parmi les dessins du chapitre purgatifs (voir : infusion de séné fig. B8 à B10, B12 à B15. — Sennatine, fig. C4, C5, C14, C17, D1 à D4. — Emodine fig. E20 à E22 et pilocarpine G5 et G6).



Parmi les propriétés sujettes à des variations, nous citerons : 1° *la distance de propagation*, c. à d. la longueur du trajet parcouru par l'onde contractile. Comme dans l'exemple décrit ci-dessus, une onde peut *s'étendre au côlon entier*, nous parlons alors d'un grand péristaltisme tubulaire. D'autres fois, le trajet reste limité, à 1 ou 2 cm. p. ex. L'image qui résulte de cette contraction ressemble alors à celle des anneaux de constriction toniques larges.

2° *L'intensité de la contraction tubulaire* varie également. Le plus souvent il se forme des contractions maximales qui ferment complètement la lumière colique et vident en une seule fois tout le segment parcouru par l'onde. La contraction est alors si intense, durant la première phase tout au moins, qu'elle resserre les capillaires. Il en résulte cette pâleur cadavérique initiale, si souvent signalée dans nos protocoles (séné). Parfois se forment de *véritables spasmes tubulaires*, qui maintiennent un segment colique en forte contracture durant plusieurs minutes.

FRÉQUENCE, RÉPARTITION RÉGIONALE ET RÔLE FONCTIONNEL DU PÉRISTALTISME TUBULAIRE.

Le péristaltisme cylindroïde est très rare chez le chat normal, soumis au régime carné. Il n'y survient que comme mouvement de défécation et reste limité aux régions terminales, au descendant et au sigmoïde. Par contre chez le chat soumis au régime mixte lacté, ce péristaltisme peut se présenter plusieurs fois dans la journée, même en dehors de la défécation et jusque dans les régions proximales, (ascendant). Le péristaltisme cylindroïde est le plus puissant des *mécanismes propulseurs* du gros intestin. Une seule grande onde peut vider le côlon du caecum à l'anus. De tous les purgatifs étudiés, le séné semble être celui qui déclanche avec le plus de facilité cette belle forme de mouvement propulseur. Il va sans dire que ce mouvement par suite de sa production fréquente, s'oppose à l'empâtement du chyme dans le gros intestin et favorise la formation de selles liquides.

Le grand péristaltisme tubulaire se distingue par la synergie de ses mouvements péristaltiques qui s'étend au côlon entier. Ce fait suggère l'idée que ce mouvement n'est pas uniquement dirigé par les centres nerveux locaux intrinsèques (plexus d'Auerbach), mais que le système nerveux *extra-intestinal* (ganglions mésentériques et centres spinaux) intervient dans la régulation. Cette question demande à être étudiée.

3° Contraction tubulaire (cylindroïde) tonique.

Cette contraction se distingue du péristaltisme cylindroïde par le fait qu'on n'y remarque pas d'onde de propagation. Un segment

plus ou moins long du côlon, se rétrécit d'un seul coup prenant la forme d'une corde mince et pâle. A la contraction des fibres circulaires s'associe souvent celle des fibres longitudinlaes et alors cette forme de contraction se rapproche de la contraction tonique générale, dont il sera question plus loin. Bien que toutes les fibres musculaires semblent se contracter simultanément, il est fort probable qu'un flux contractile se propage de haut en bas. Mais la vitesse de l'onde qu'il produit est telle qu'on ne peut l'observer.

Péristaltisme et contraction tubulaire tonique chez l'homme.

Mes recherches radioscopiques sur l'homme, ainsi que celles de HOLZKNECHT, HERTZ et d'autres, nous permettent d'admettre que le côlon humain normal possède le même péristaltisme tubulaire que le côlon du chat. Ce mouvement semble être la cause de ces poussées brusques et périodiques qui se manifestent à de longs intervalles dans l'ombre bismuthé du côlon humain. D'après mes observations, le *mouvement rétrograde* du côlon de l'homme semble être de même nature que les *contractions tubulaires* toniques. (Voy. le chap. antipéristaltisme). Les observations radioscopiques de MEYER-BETZ et GEBHARDT nous permettent d'admettre que certains purgatifs, le séné entre autres, stimulent chez l'homme également les phénomènes de grand péristaltisme tubulaire.

4o Contractions toniques générales.

Je désigne sous ce terme une forte contraction tonique, qui s'étend à un grand segment du côlon et qui intéresse simultanément et avec une force à peu près égale la couche des fibres circulaires et celle des fibres longitudinales. Il en résulte une diminution de calibre et un raccourcissement considérables (voy. à la fig. C9 comme l'ascendant entier se contracte en boule). Cette contraction atteint fréquemment un maximum, où le gros intestin entier se trouve transformé en un cordon pâle, mince et rigide, extrêmement raccourci. En collaboration avec LUDWIG, j'ai pu observer au moyen de la fenêtre abdominale une contraction analogue de *l'utérus gravide et puerpéral* chez le lapin et le chat. Pour les détails, voir nos travaux se rapportant à ce sujet. L'utérus humain semble présenter la même contraction tonique générale pendant les douleurs. Dans le gros intestin du chat, la contraction tonique générale apparaît généralement en relation avec la défécation, elle s'observerait surtout sous l'influence du séné. Le raccourcissement du gros intestin est parfois énorme, de sorte que sa longueur peut se trouver réduite à moins d'un tiers. Le raccourcissement du descendant fait alors disparaître le côlon entier dans le bassin.

5° Fluctuations lentes et périodiques de la tonicité. (Hypertonie cylindroïde.)

A l'encontre de celui de l'intestin grêle qui est beaucoup plus marqué, le tonus spontané du gros intestin normal est ordinairement faible. Le côlon, pendant ces longues et fréquentes périodes inactives, revêt un aspect dilaté. De temps à autre, à d'assez longs intervalles, surviennent des augmentations de tonicité. Ces fluctuations spontanées du tonus colique se produisent par segments et intéressent surtout les fibres circulaires. P. ex. : l'ascendant ou le descendant seul diminue de calibre. D'ordinaire les augmentations du tonus s'établissent très lentement, et peuvent persister 5, 10, 30 min. voir même des heures. Nous parlerons alors d'une *hypertonie tubulaire ou cylindroïde* intéressant un segment colique donné. Le siège favori de ces hypertonies est le côlon descendant. Chez le chat normal, elles surviennent aussi périodiquement, mais n'atteignent alors qu'un degré léger. Après la défécation, le descendant persiste souvent pendant 5 à 20 min. dans un état de forte hypertonie tubulaire. *(Hypertonie post-défécatoire)*. Sous l'influence des purgatifs anthraquinoniques, les fluctuations de la tonicité deviennent fréquentes et plus intenses. On trouvera dans nos protocoles d'expériences des exemples où le descendant demeure pendant 1 heure dans un *spasme tubulaire*. Rappelons que chez l'homme, l'hypertonie du côlon descendant est un symptôme bien connu de la *constipation spasmodique*. L'origine des fluctuations périodiques de tonicité semble être plus souvent de nature *automatique* que réflexe. L'importance physiologique de ces augmentations périodiques du tonus colique, consiste en ceci : (voy. aussi le chapitre : irritabilité) chaque élévation du tonus dans un segment colique donné, augmente son excitabilité vis à vis des excitants qui déclanchent le péristaltisme, tout particulièrement vis à vis de la distension. *L'hypertonie relative prédispose et prépare donc un segment au péristaltisme.* Ainsi les fluctuations automatiques du tonus colique peuvent régler indirectement la fréquence du péristaltisme. La période active d'un segment colique est souvent précédée d'un état *d'hypertonie* cylindroïde. Cette hypertonie persiste souvent pendant cette période.

C. LES MOUVEMENTS DE DÉFÉCATION DU CÔLON.

Sous ce terme je comprends les grands mouvements péristaltiques ou toniques qui s'observent dans toutes les régions du *gros intestin*, immédiatement avant, pendant et après l'acte de défécation proprement dit. Les mouvements des parties terminales (rectum) n'y sont point compris et forment un chapitre à part, que nous n'avons pas étudié. Les formes des mouvements de défécation sont les mêmes que celles qui se produisent également en dehors de cet acte. D'après mes

observations, les mouvements de défécation du gros intestin, qui n'apparaissent normalement qu'à de longs intervalles, semblent constituer un facteur important dans le *déclanchement du réflexe* de la défécation et pour cette raison ils offrent un intérêt physiologique considérable ; nous les étudierons de plus près.

a) Exemples de mouvements de défécation chez le chat normal.

Exemple 1. — Mouvements de défécation spontanés. Péristaltisme tubulaire du descendant.

Le chat, quoique soumis à un régime carné, produisait deux selles par jour. Le 11 avril, la première défécation a lieu le matin à 9 h. 5 min. Elle est précédée d'une forte onde de péristaltisme tubulaire, qui débute au descendant et se propage rapidement au sigmoïde et au rectum, transformant le descendant, visible à la fenêtre, en une corde cylindrique pâle extrêmement rétrécie. A ce moment le chat met en action la *presse abdominale*, puis expulse une selle consistante. Durant cet acte, le côlon entier descend dans le bassin où il disparaît. L'expulsion finie, la contraction des muscles abdominaux cesse et le côlon remonte vers le haut, regagnant peu à peu sa tonicité antérieure.

Exemple 2. — Mouvement de défécation spontané dans l'ascendant. Contraction tubulaire tonique.

Sur le sujet de l'exemple 1, nous observons le même jour à 12 h. 30, une seconde défécation évacuant une selle molle et des gaz. L'ascendant montre un phénomène préparatoire : hypertonie tubulaire pendant les 10 min. qui précèdent la défécation. Le mouvement de défécation débute cette fois dans l'ascendant, qui, par une forte *contraction tubulaire tonique*, se transforme en une corde pâle et mince dont les contours montrent des crénelures. Seconde phase : la contraction se propage par une onde de péristaltisme tubulaire le long du descendant, tandis que l'ascendant se relâche déjà. Puis l'animal actionne de nouveau la presse abdominale, le côlon se déplace vers le bassin et le chat expulse une selle molle et des gaz. L'expulsion finie, l'effort cesse et le côlon remonte à sa place normale, se relâchant presque entièrement.

Exemple 3. — Péristaltisme de défécation provoqué par l'introduction d'une sonde dans le rectum. Incitation sensitive.

Chat soumis au régime carné, 24 heures avant l'expérience : repas bismuthé. De 9 heures 6 min. à 9 h. 12 min. le côlon entier, visible à la fenêtre, est inerte et offre un aspect relâché et dilaté. 9 h. 15 min. On introduit par l'anus, à une profondeur de 5 cm., une sonde de Nélaton que l'on laisse jusqu'à expulsion. Au coecum naissent bientôt des anneaux de constriction toniques, profonds, de courte durée. 9 h. 16 min. Côlon entier relâché, au repos.— 9 h. 22. Une grande onde de péristaltisme tubulaire part du coecum, se propage rapidement jusqu'au sigmoïde et transforme le côlon visible en un tube rigide, mince, d'une pâleur cadavérique. C'est alors que le chat commence un effort volontaire et évacue une selle molle, moulée, avec la sonde.

9 h. 25 min. la défécation était terminée ; le côlon remonté vers le haut présente encore une contracture post-défécatoire maximale.

9 h. 26 min. La contracture commence à diminuer. — 9 h. 27 min. Il se produit une seconde onde de *péristaltisme tubulaire*, parcourant rapidement le côlon entier, précédant l'évacuation d'une nouvelle selle. — 9 h. 30 min. 3e *défécation*, de nouveau précédée d'un grand péristaltisme tubulaire et se continuant comme les deux précédentes.

La radioscopie montre que le côlon, antérieurement rempli, s'est complètement vidé par ces trois défécations.

CONTRACTURE POST-DÉFÉCATOIRE.

Après la dernière défécation, le côlon persiste pendant 20 min. dans un état de contraction tubulaire tonique. La même contracture post-défécatoire s'observe également chez d'autres chats normaux après des défécations spontanées.

Exemple 4. — DÉFÉCATION SPONTANÉE. PÉRISTALTISME TUBULAIRE, LIMITÉ AU CÔLON DESCENDANT.

8 h. 20 min. (matin). Un anneau de constriction tonique profond apparaît primitivement à la limite du transverse et du descendant, il devient le point de départ d'une forte onde de péristaltisme tubulaire, cheminant le long du descendant et le contractant en un tube pâle et mince. Cette onde contractile de la musculature lisse précède l'effort volontaire de l'acte de la défécation. Puis expulsion d'un bol solide. Le contrôle radioscopique, fait avant et après la défécation, montre qu'elle n'a évacué que la moitié distale du contenu colique.

Exemple 5. — MOUVEMENT DE DÉFÉCATION DU CHAT SOUMIS AU RÉGIME LACTÉ. GRAND PÉRISTALTISME TUBULAIRE DU CÔLON ENTIER.

Ce chat, soumis au régime lacté, a deux selles diarrhéïques par jour. Nous observons ce qui suit : à 6 h. 30 du soir, quelques minutes avant la défécation, l'ascendant augmente de tonicité et persiste dans cet état. Apparaît alors une onde intense de grand péristaltisme tubulaire, qui débute au cœcum, chemine rapidement le long de l'ascendant, du transverse et du descendant jusqu'au sigmoïde. Le côlon visible en entier, se trouve alors rétréci au maximum, transformé en un tube mince de pâleur cadavérique et persiste durant 1 minute dans cet état. Aussitôt l'onde partie du cœcum, il se produit une expulsion de gaz, suivie de l'évacuation d'une selle semi-liquide, sans qu'on remarque cette fois un effort des muscles volontaires. Une minute plus tard le côlon entier était de nouveau relâché

RÉSUMÉ.

Résumons les phases caractéristiques que présente dans la règle le *mécanisme de la défécation*, tel qu'il s'observe directement à la fenêtre :

1re Phase : *Hypertonie préparatoire* (elle fait parfois défaut) ; 5 à 10 min. avant la défécation, le segment du côlon destiné à engendrer le mouvement péristaltique, entre en état d'hypertonie tubulaire persistant.

2me Phase : *Péristaltisme colique précurseur de la défécation.* Le côlon prépare la mise en train du réflexe de défécation, par un grand

mouvement péristaltique qui donne lieu à une progression brusque d'une partie considérable de son contenu, qui amène la distension rectale.

3me Phase : *Contraction des muscles volontaires (presse abdominale et expulsion)*. Dès que l'onde de contraction de la musculature lisse s'approche des parties terminales du côlon, on voit le chat faire un effort et mettre en jeu la musculature volontaire (presse abdominale) afin de favoriser l'expulsion du bol fécal.

4me Phase : *Contracture post-défécatoire.*

Chez le chat normal, l'intensité, la fréquence et l'étendue du péristaltisme défécatoire dépendent avant tout de son régime alimentaire, qui offre lui-même un rapport direct avec la consistance des selles. Chez des chats produisant des selles fréquentes et peu consistantes, on observe généralement de grandes ondes de péristaltisme tubulaire, précurseurs de la défécation, s'étendant au gros intestin entier (voy. exemples 3 et 5). Tout autre était l'image chez les chats nourris uniquement de viande. Les selles dures n'ayant lieu que tous les 2-3 jours, les difficultés de l'observation ne nous ont permis de saisir que quelques cas : chez ces chats le *péristaltisme défécatoire* est alors limité à la région distale (tel qu'il a été décrit à l'exemple 4). Parfois le mouvement péristaltique ne frappe que la partie terminale du côlon descendant et les régions sous-jacentes. Si l'on ajoute à la viande, des aliments qui provoquent des excitations péristaltogènes plus fortes, tel que le lait, par exemple, on voit apparaître, d'une façon plus fréquente, pendant la défécation, le grand péristaltisme cylindroïde qui remonte même dans les régions proximales. Dans d'autres cas survient comme précurseur de la défécation la grande *contraction générale tonique*. Les purgatifs anthraquinoniques, le séné, surtout, provoquent ces mêmes grands mouvements de défécation. (Voy. des nombreux exemples dans les fig.)

b) Rôle physiologique du péristaltisme de défécation.

En faisant de nombreuses radioscopies sur le chat normal, j'ai pu constater que dans la règle les matières séjournent des heures, même des journées entières dans les parties terminales, à savoir le sigmoïde et le rectum, comme dans un réservoir physiologique, sans que leur seule présence déclanche le réflexe de la défécation, chose souvent admise. Une sommation des excitations provenant du contenu rectal (tension de la paroi) ou un *surcroît brusque* d'excitation dans le rectum, semble nécessaire pour le déclanchement du dit réflexe, à l'état normal. Une distension brusque du rectum semble être la cause ordinaire du déclanchement de ce réflexe ; elle est assurée par l'intervention des mouvements de défécation : ceux-ci évacuent d'un seul coup une partie considérable du contenu colique dans le rectum, ce qui doit produire par conséquent une *brusque augmentation* de *la distension* dans

l'ampoule rectale, d'où naîtrait l'*excitation spécifique* pour le déclanchement du réflexe de la défécation. Il est possible qu'en même temps le flux contractile se propage directement du côlon au rectum et augmente la tonicité de ce dernier ; il en résulterait une tension plus forte de la paroi rectale, autre source de ce réflexe. Mais la distension brusque et la tension de la paroi rectale ne sont pas les seules sources d'excitation du réflexe défécatoire. Une *excitation sensitive*, chimique ou mécanique, portée sur la muqueuse rectale produisait le même effet. Qu'on se rappelle l'action des suppositoires à la glycérine, p. ex.

Dans notre exemple N° 3, nous avions, à l'aide d'une sonde, appliqué sur la muqueuse rectale une excitation mécanique, qui a provoqué une série de défécations, précédés de grandes contractions du côlon. Reste à savoir, si dans ce cas, le réflexe de la défécation a été déclanché directement par cette excitation sensitive (et mécanique) ou indirectement par l'intermédiaire des grandes contractions péristaltiques du côlon, déterminant une *distension* du rectum.

c) Déclanchement direct du réflexe de la défécation par une contraction violente du côlon proximal (action du séné).

A l'état normal, l'excitation spécifique qui provoque le réflexe de la défécation prend son origine dans le rectum. Sous l'influence du séné, cette zone d'excitabilité se trouve agrandie jusqu'aux parties proximales (voy. les nombreux exemples dans les protocoles d'expériences et les figures, spécialement fig. B8 et B9). Une contraction tubulaire, violente du côlon ascendant ou transverse déclanche directement le réflexe de la défécation, avant qu'il puisse être question de déplacement du contenu colique dans le rectum et de la distension de ce dernier. Le segment proximal, en état de contraction violente, doit lui-même être le siège de cette source d'excitation. Cela n'a rien pour nous étonner. Nous savons que des contractions pareilles émettent de fortes incitations sensitives, qui peuvent se manifester sous forme de « *douleurs spasmodiques* ». (Voir les expériences de J. BRUNING et GOHRBANDT).

d) Analogie des mouvements de défécation chez le chat et chez l'homme.

Les recherches radiologiques faites sur l'homme, nous permettent d'admettre que les mouvements de défécation, observés en détail à la fenêtre abdominale du chat, présentent une analogie étroite avec ceux qui se produisent dans le côlon humain et y jouent un rôle physiologique important. HERTZ, le premier, en faisant des radiographies, avant et après la défécation, a suivi chez l'homme la progression du contenu colique et mis en évidence que non seulement dans les parties distales,

mais aussi dans le côlon ascendant et transverse, le contenu progressait dans cette période par poussées brusques. D'après HERTZ, le repas du matin, agissant sur l'estomac vide, serait le plus puissant stimulant des mouvements de défécation du côlon : *(réflexe gastro-colique)*. v. BERGMANN et l'auteur, à l'aide de l'écran fluoroscopique, ont pu suivre dans toutes les régions du côlon humain, comment, immédiatement avant et pendant la défécation, survenaient de grandes et brusques progressions de l'ombre bismuthé. Ces observations me conduisent aujourd'hui à admettre qu'il s'agit chez l'homme du même mécanisme que chez le chat, c'est-à-dire de grandes ondes de péristaltisme tubulaire.

D. APERÇU GÉNÉRAL DÈ LA MOTRICITÉ COLIQUE NORMALE.

Après avoir analysé séparément chaque forme des mouvements du côlon, il nous reste à décrire leur enchaînement au cours d'une journée (chat normal). Pour la première fois, grâce à la méthode de la fenêtre abdominale, il a été possible d'observer d'une façon continue les mouvements intestinaux, spécialement ceux du côlon, durant une journée, chez un animal dont les fonctions rappellent d'une manière frappante celles de l'homme. La fenêtre a permis d'étudier la fréquence, la succession des mouvements coliques et différentes lois intéressantes, qui régissent le travail d'ensemble de ces mouvements. La motricité du côlon normal observée à la fenêtre, a pour caractère prépondérant : la *rétention*. Les traits saillants de la motricité colique normale sont :

1° *Les périodes d'inactivité, longues et fréquentes.*

2° *La prédominance des mouvements de rétention* (antipéristaltisme et anneaux toniques).

3° *La rareté des mouvements propulseurs* (péristaltisme annulaire et tubulaire).

a) Régime alimentaire et mouvements coliques.

La succession normale des mouvements du côlon est en rapport étroit avec le régime alimentaire. Un chat, nourri exclusivement de viande maigre et cuite, devient fortement constipé et produit une selle dure tous les 2 à 3 jours. A la fenêtre on est frappé par l'*inertie et l'immobilité* que présente alors le côlon. Si l'on ajoute au régime carné du chat, du pain, des pommes de terre ou du lait en quantité croissante, la traversée intestinale des aliments, contrôlée aux rayons X, s'accélère graduellement, et les selles deviennent plus fréquentes et plus molles. Si l'on passe alors au régime exclusivement lacté, les selles sont franchement diarrhéïques et se répètent plusieurs fois par jour. Il était

intéressant de suivre à la fenêtre abdominale, le changement qui se produit dans les mouvements coliques quand on passe à un régime alimentaire laxatif. C'est ce que nous avons fait. On voyait alors s'intensifier corrélativement tous les mouvements du côlon, même ceux de rétention. Mais en même temps le caractère essentiel de la motricité colique se modifiait et passait du type rétentif au type propulseur. A mesure que les selles devenaient plus fréquentes et plus molles, on voyait augmenter la force et le nombre des *mouvements propulseurs*, (*anneaux* de *constriction propulseurs* et *péristaltisme tubulaire*). Par l'observation directe à la fenêtre, nous avons donc pu analyser en détail le fait connu, grosso modo, du clinicien, qu'un changement de régime produit des effets péristaltogènes tout à fait semblables à ceux de certains purgatifs.

b) Cours normal des mouvements du gros intestin durant une période d'observation continue de 12 heures.

Considérons maintenant le cas représentant le plus exactement les conditions physiologiques, c'est-à-dire celui d'un chat au régime carné, non constipé, qui a chaque jour une selle moulée et homogène. Les repas sont donnés le matin, et le soir entre 5 et 6 heures ; l'observation dure de 8 h. du matin à 7-8 heures le soir. Le phénomène le plus important à signaler est celui des *longues périodes inactives du côlon*. Durant ces 12 h. d'observation, la totalité des périodes d'inactivité du gros intestin dépasse de beaucoup celle des périodes d'activité. Le côlon apparaît ordinairement à la fenêtre à l'état de repos, même pendant la période digestive. Ceci contraste avec l'image des anses grêles (visibles à côté du côlon) qui, pendant la période digestive sont en activité continuelle, exécutant de vifs mouvements pendulaires et péristaltiques.

Les périodes d'inactivité colique ont ordinairement une durée de 10 à 15 minutes, quelquefois 5 minutes seulement, mais parfois elles atteignent 30 minutes ou 1 heure.

Les périodes actives, formées dans la règle par des ondes antipéristaltiques se succédant à intervalles réguliers, ou par des anneaux toniques, ont une durée moyenne de 1 à 3 minutes, plus rarement de 5 min. Un anneau tonique peut persister parfois pendant 10 à 30 min. Somme toute, les périodes actives, formées par l'antipéristaltisme ont une fréquence et une durée à peu près égale à celles formées par les anneaux toniques. L'image peut considérablement varier, et il se trouve des cas normaux où l'un des deux mouvements (de rétention) est bien plus prononcé que l'autre (voir aussi les protocoles d'expériences : passages normaux du chapitre des purgatifs). A cette image, normale, s'ajoutent de temps à autre des *fluctuations*

de tonicité colique (hypertonie tubulaire, voir ce chapitre). De même l'image d'ensemble ne serait pas complète si l'on ne mentionnait l'intervention des mouvements propulseurs :

c) Quels sont les propulseurs physiologiques du contenu colique?

Autant il est facile, chez le chat normal, d'observer à la fenêtre abdominale, les mouvements de rétention, autant il est difficile d'observer et d'analyser les mouvements propulseurs. Ils sont tantôt trop faibles et trop lents, tantôt trop rares pour être observés aisément. D'après nos recherches nous avons à distinguer deux *mécanismes propulseurs différents* :

1° Progression lente et continue, par les anneaux toniques, faiblement propulseurs, mais a action répétée.

Depuis les études radiologiques on a pu constater chez le chat, comme chez l'homme, que l'ombre bismuthée, dans le côlon, était animée d'une progression lente et continue. Mais la cause de ce phénomène restait inconnue. On a souvent invoqué à tort la *vis a tergo* de l'intestin grêle, dont nous aurons encore à parler. L'observation à la fenêtre abdominale, combinée avec la radioscopie sur le même chat, nous a révélé la vraie cause de cette progression lente et continue des matières dans le côlon normal. Elle s'effectue à l'aide *d'anneaux de constriction toniques*, peu profonds, qui migrent très lentement dans le sens *antérograde*, mais ne se propagent généralement pas à plus de ½ à 1 cm. ; puis ils se relâchent et sont remplacés, à intervalles variables, par d'autres contractions. La force propulsive d'un seul de ces anneaux n'est que très faible ; mais ils semblent se répéter à intervalles assez réguliers, dans chaque région du côlon, pour que leur action produise tout de même un effet propulseur notable. On comprend dès lors le caractère lent et continu de cette progression du contenu colique. Comme nous l'avons mentionné auparavant, les anneaux doivent être considérés comme une sorte de *régulateurs* de la *vitesse de traversée* du côlon. D'un mécanisme de barrage qu'ils constituent d'ordinaire, ils se transforment facilement en un mécanisme nettement propulseur, énergique, p. ex. sous l'influence du régime lacté ou du séné.

2° Progression par poussées brusques sous l'action du péristaltisme tubulaire.

Ce second mécanisme propulseur joue un rôle physiologique aussi bien chez l'homme que chez le chat. Une progression soudaine et brusque du contenu colique, s'étendant rapidement à une distance

notable, apparaît généralement une ou deux fois par jour, le plus souvent immédiatement avant la défécation. Il arrive que les côlons ascendant et transverse évacuent d'un seul coup leur contenu dans le descendant.

L'observation à la fenêtre montre que ces poussées rapides sont causées par des grandes *ondes de péristaltisme tubulaire* (voir ce chapitre). — Comme l'observation à la fenêtre et la radioscopie nous ont permis de l'établir, la *vis à tergo* de l'intestin grêle n'est capable de remplir que le cœcum et la première moitié du côlon ascendant. Si pendant une longue période les mouvements propulseurs n'apparaissaient pas à la fenêtre, le contenu colique restait immobile et n'atteignait pas le côlon transverse. Dès que les mouvements propulseurs étaient de nouveau visibles à la fenêtre, la progression pouvait aussi être observée à la radioscopie.

Chez l'homme la progression physiologique du contenu colique semble se produire essentiellement suivant les deux mêmes *mécanismes*, que nous venons d'analyser chez le chat (voir les travaux antérieurs de l'auteur, ainsi que ceux de HOLZKNECHT, RIEDER, SCHWARZ).

d) Relation entre mouvements et fonctions du côlon.

1) FONCTION DE RÉTENTION.

Les résultats des observations à la fenêtre nous permettent de mieux comprendre l'action motrice caractéristique du côlon. Nous savions déjà que chez le chat comme chez l'homme, les aliments parcourent beaucoup plus rapidement l'intestin grêle que le côlon, où il se produit une vraie *stagnation physiologique* du contenu. Nos observations expliquent aisément cette différence dans la vitesse du passage. L'intestin grêle, tant qu'il contient du chyme, est continuellement en activité et les mouvements propulseurs s'observent souvent sur les anses apparaissant à la fenêtre. Le côlon se comporte tout autrement. Sa motricité normale est essentiellement adaptée à la fonction de rétention, démontrée par les longues périodes inactives d'une part, par la prédominance des mouvements de rétention comme l'antipéristaltisme et les anneaux toniques d'autre part, enfin par la faiblesse et la grande rareté des mouvements propulseurs. Dès que la motricité colique normale est altérée et qu'elle tend à prendre le caractère de celle de l'intestin grêle, les selles deviennent liquides, la résorption dans le côlon étant entravée.

2) FONCTION DE BRASSAGE.

Elle est beaucoup moins marquée que dans l'intestin grêle. L'antipéristaltisme et les anneaux toniques, et surtout leur action combinée et simultanée, jouent un rôle dans l'accomplissement de cette fonction.

E. DE L'IRRITABILITÉ ET DE L'AUTOMATISME DU GROS INTESTIN. (EXCITANTS PHYSIOLOGIQUES. RÉACTIONS RYTHMIQUES ET TONIQUES.)

Cette question a déjà été étudiée par COURTADE et GUYON, BAYLISS et STARLING, MAGNUS, CANNON, ELLIOTH et BARCLAY-SMITH, DUBUS et SURMONT. Les observations de ces auteurs, complétées par nos recherches à la fenêtre abdominale, nous conduisent à émettre les conceptions suivantes : A l'état normal, la tunique musculaire du côlon entre en activité sous l'influence des *excitations* suivantes :

1) *Excitations automatiques, endogènes.*

Font partie de cette catégorie toutes les excitations qui partent spontanément du plexus d'AUERBACH ou de la tunique musculaire, telle que celles déclanchées par la choline, hormone péristaltogène d'après MAGNUS et LE HEUX. (D'après les récentes recherches de MANSFELD le CO_2, résultant des processus de dissimilation, serait la veritable source des excitations automatiques).

2) *Excitations exogènes, par des réflexes péristaltogènes locaux.*

Elles comprennent :

a) *la distension,*

b) *les réflexes péristaltogènes partant de la muqueuse.*

L'excitation sensitive de la muqueuse du côlon provoque un réflexe moteur local, dont le centre est dans le plexus d'AUERBACH.

3) *Réflexes moteurs extrinsèques.*

Leurs centres se trouvent dans les ganglions sympathiques et la moëlle épinière sacrée. Ces réflexes peuvent être mis en train par la distension, comme par l'excitation de la muqueuse.

4) *Réflexes coordinateurs à distance.*

1° De l'excitabilité par distension.

Pour étudier ce sujet ELLIOTH et BARCLAY-SMITH soumettent le chat à la narcose à l'éther, lui font une laparotomie et entretiennent l'intégrité du tube digestif par des bains salés à 8 °/°°.

En introduisant par l'anus une bulle d'air, dans un colon en état d'hypertonie, ils constatent qu'on provoque une *distension* circonscrite. Cette distension déclanche des ondes anitpéristaltiques qui partent de l'extrémité distale de la zone distendue, et courent continuellement jusqu'à l'extrémité proximale poussant lentement la bulle d'air vers le cœcum.

La distension modérée du côlon entier, provoquée par l'introduction d'air, stimule l'antipéristaltisme dans le tiers proximal, et donne naissance dans le descendant à un anneau propulseur, qui migre lentement vers l'anus et expulse l'air introduit.

CANNON, se servant de la même méthode, a fait l'expérience suivante : en appliquant une goutte d'une solution de $BaCl_2$ à la surface du côlon, il obtient un anneau de constriction tonique, proford. L'anneu a de contraction émet alors des ondes péristaltiques rythmiques aussi longtemps que le côlon se trouve rempli d'un liquide, qui exerce une pression modérée. (Distension). Dès qu'on évacue le contenu, les ondes cessent. D'une façon semblable, d'après CANNON, l'afflux des aliments

dans le côlon ascendant provoquerait l'antipéristaltisme par distension. CANNON admettait que la distension par le contenu était la seule source d'excitation de l'antipéristaltisme. Elle déterminerait en outre la direction des ondes contractiles d'après la loi d'UEXKUELL, qui dit que le flux contractile se propage d'une région active ou à tonicité supérieure, à une région inactive ou à tonicité inférieure.

Nos observations à la fenêtre, se rapportant à la même question, nous montrent que la genèse de l'antipéristaltisme suit des lois plus complexes. L'antipéristaltisme, de même que toutes les autres formes de mouvement colique, n'est pas uniquement provoqué par l'agent de distension, mais bien par les 5 sources d'excitations, mentionnées plus haut. J'ai décrit l'apparition de l'antipéristaltisme dans le côlon en état de vacuité complète, où il ne pouvait être question d'agent de distension (voir ce chapitre). Dans ces expériences l'excitation devait être d'origine endogène, de nature *automatique*. Le côlon porte donc en soi, dans *ses plexus nerveux, l'automatisme antipéristaltique et les agents exogènes ne font que le modifier.*

2° Tonicité et péristaltisme.

CANNON a relevé le fait qu'un segment du côlon, complètement relâché, réagit beaucoup plus difficilement à une excitation par distension qu'un segment en état de tonicité. On trouvera parmi nos dessins et protocoles d'expériences de nombreux exemples qui confirment cette manière de voir. Elle repose sur la base exacte des recherches de SCHULTZ, qui a démontré qu'un muscle lisse à l'état de contraction subit, sous l'action des mêmes poids, une distension bien plus considérable qu'à l'état de relâchement. En outre, plus la distension est rapide, plus l'excitation est grande (TRENDELENBURG : observations sur l'intestin grêle du cobaye). L'excitation du péristaltisme par la distension, due au contenu normal, liquide ou gazeux, trouve donc dans les régions du côlon en hypertonie, un meilleur point d'appui que dans les régions atoniques. C'est un fait important pour comprendre la *constipation atonique*. TRENDELENBURG signale en outre le rôle important des *fluctuations du tonus* déjà décrites. Élevant périodiquement la tonicité des différents segments du côlon *(Hypertonies tubulaires)*, elles augmentent par suite l'irritabilité péristaltogène, vis-à-vis du contenu. Pour plus de détails, voir les exemples de nos expériences. On y verra fréquemment une phase d'hypertonie tubulaire, précéder l'activité rythmique d'un segment.

3° Rôle physiologique des réflexes péristaltogènes, partant de la muqueuse.

Le rôle physiologique de ces réflexes a été généralement négligé jusqu'ici en faveur de l'agent de distension. Et pourtant, suivant les résultats de nos observations, il nous semble être considérable.

Nous sommes arrivés à l'hypothèse suivante : l'intestin des *herbivores* qui ont une nourriture abondante, semble être spécialement bien adapté aux excitations par distension, tandis que l'intestin des *carnivores*, dont la nourriture est réduite à un petit volume, est beaucoup plus sensible aux réflexes péristaltogènes partant de la muqueuse. Cette hypothèse explique en premier lieu ce fait établi, qu'une nourriture si pauvre en agents mécaniques (de distension), telle que le *lait, constipe le cobaye et provoque la diarrhée chez le chat*, et en second lieu le fait que, les purgatifs anthraquinoniques *purgent le chat, mais point le lapin* ; c'est que ces purgatifs agissent aussi par la stimulation des réflexes péristaltogènes, partant de la muqueuse, comme j'ai pu le démontrer.

4° De la genèse des longues périodes d'inactivité colique.

Chez le chat, comme chez l'homme, les longues périodes inactives constituent un élément caractéristique de la motricité colique normale. Il en est tout autrement chez le lapin, dont le cœcum et le côlon montrent à la fenêtre abdominale une agitation très vive, presque continuelle et exécutent des mouvements péristaltiques et antipéristaltiques.

Nous avons déjà parlé du but de ces longues périodes inactives, qui est la rétention. Mais comment expliquer la genèse de ces périodes inactives? *L'excitabilité peristaltogène* semble diminuer de haut en bas dans l'intestin du chat et du chien. La vitesse de passage des aliments est extrêmement grande dans les parties supérieures. (BRANDL et TAPPEINER, CANNON). Mais dans l'iléon déjà il y a une stagnation physiologique, qui devient excessive dans le côlon. Toutefois ce ne sont que des indices. Pour voir clair dans la question posée, il serait nécessaire de comparer par l'expérience : l'excitabilité motrice de l'intestin grêle avec celle du côlon, soit vis-à-vis de la distension, soit vis-à-vis des réflexes péristaltogènes de la muqueuse. Il est à prévoir que l'excitation par la distension doit avoir un plus faible effet dans le côlon, parce qu'il possède une tonicité spontanée moins marquée que le grêle. Nous avons pu vérifier cette supposition chez le chat fenêtré en introduisant de l'air par le rectum, et il nous a paru que l'excitabilité était en effet relativement faible.

5° Origines des excitations rythmiques. Anneaux à pulsations rythmiques. Déterminantes de la direction du péristaltisme dans le côlon.

L'abdomen étant ouvert, CANNON appliquait une goutte d'une solution de $BaCl_2$ à la surface du côlon et arrivait ainsi à produire des anneaux de contraction qui montraient des pulsations rythmiques, chacune émettant une onde anti-péristaltique. Il en déduisait que dans les conditions normales, les ondes antipéristaltiques avaient leur origine toujours dans un centre rythmique et fixe pendant la période active. Ce centre serait représenté par un anneau fixe de pulsations rythmiques, situé à l'extrémité inférieure de la zone antipéristaltique. Pour expliquer la direction rétrograde des ondes engendrées, il invoquait, d'abord la loi D'UEXKUELL, à savoir que les ondes partiraient toujours d'un segment plus contracté pour se diriger vers un segment moins contracté. Mais la déterminante la plus importante de la direction rétrograde du péristaltisme

colique serait, d'après CANNON, d'ordre mécanique et dépendrait de la consistance du contenu du colon, tandis que nous l'admettions déjà indépendante de ce contenu et dirigée *directement par l'automatisme des plexus d'Auerbach*. CANNON supposait qu'un anneau à pulsations rythmiques du côlon proximal ne pouvait émettre des ondes contractiles que dans la direction cœcale et non du côté anal, parce que dans la région proximale le contenu était semi-liquide, tandis qu'il était solide dans la région distale. Ceci aurait pour effet que la distension, immédiatement en amont d'un anneau à pulsations rythmiques, situé au côlon proximal, serait plus forte qu'en aval. Le flux contractile serait alors attiré dans la direction de la plus forte distension, ce qui déterminerait la rétrogression des ondes. TRENDELENBURG, dans ses expériences sur l'intestin grêle isolé, chez le cobaye, a vu s'établir la direction du péristaltisme, d'après la loi D'UEXKUELL. Les ondes péristaltiques provoquées par l'élévation de la pression intérieure, partaient toujours de la région du tonus maximum pour se diriger vers celle du tonus minimum, donc dans la *direction* de la *chute de tonicité*.

Résumons maintenant les conclusions résultant de nos propres recherches. Deux particularités de l'excitabilité réflexe du côlon méritent d'être signalées : 1° *la Réaction focale*, c'est-à-dire le fait qu'à une excitation étendue à un segment entier, celui-ci répond par une réaction réflexe *limitée* souvent à un seul point. 2° *la Variabilité de la réaction*, c'est-à-dire qu'à des excitations réflexes de nature continue, le même segment peut répondre une fois par des décharges *rythmiques*, une autre fois par une décharge continue, *tonique*. Il est probable que le plexus myentérique d'AUERBACH, règle cette transformation des réactions issues d'une même excitation. Un endroit quelconque du côlon semble pouvoir engendrer des impulsions rythmiques et toniques. Les centres d'activité rythmique, points de départ des ondes antipéristaltiques, n'ont donc pas un siège fixe comme ceux du cœur. (CANNON). Les lois qui gouvernent la formation de ces centres de contraction nous sont encore peu connues et pourraient faire l'objet d'une étude intéressante. Nous savons pourtant que les centres d'activité rythmique, tout aussi bien que ceux d'activité tonique, s'établissent sous l'influence de la distension (ELLIOTH et BARCLAY-SMITH) ou d'une irritation sensitive, portée sur la muqueuse (émodine, anthrapurpurine p. ex.). La portée des ondes émises par un centre rythmique, dépend en premier lieu de la force de l'excitation rythmique à la source, car les ondes profondes se propagent d'ordinaire plus loin que les ondes superficielles ; en second lieu de l'état de tonicité du *segment parcouru*. J'ai souvent vu, à la fenêtre, apparaître spontanément les anneaux fixes à pulsations rythmiques que CANNON produisait à l'aide du $BaCl_2$. Mais d'ordinaire les ondes antipéristaltiques naissaient indépendamment de ces anneaux. *La direction de la transmission* (rétrograde ou antérograde) des ondes contractiles du côlon n'est pas déterminée par la loi d'UEXKUELL. Dans nos observations à la fenêtre, nous avons souvent constaté que les ondes antipéristaltiques peuvent courir d'un point de *tonicité inférieure* à un point de tonicité supérieure, donc dans le sens inverse à celui indiqué par la loi d'UEXKUELL et de TRENDELENBURG

(voy. aussi les fig. et le chapitre antipéristaltisme). *La direction* des ondes antipéristaltiques semble être soumise tout d'abord à une *coordination* nerveuse, automatique, ayant son *siège dans le système nerveux local* : (plexus d'AUERBACH). Elle peut être modifiée par voie réflexe, p. ex. sous l'influence du séné, qui provoque une inversion de la direction du péristaltisme.

F. RÉFLEXES COORDINATEURS A DISTANCE.

RÉFLEXES GASTRO-COLIQUE. EXPÉRIENCES PHYSIOLOGIQUES ET PHARMACOLOGIQUES.

La fenêtre abdominale, établie selon la technique décrite, permet de suivre simultanément les mouvements de l'estomac, de l'intestin grêle et du gros intestin. Elle se prête donc très bien à l'étude des réflexes qui coordonnent à grande distance les fonctions motrices des parties supérieures et inférieures du tube digestif. *(Réflexes gastro-colique et entéro-colique)*. Depuis très longtemps on sait que le besoin de la garde-robe se fait sentir de préférence après les repas, et spécialement après le petit déjeuner. HERTZ, dans ses recherches radiographiques sur l'homme, a constaté que l'ombre bismuthée subit dans le côlon de grandes poussées propulsives à la suite d'un repas. L'expérience physiologique a permis d'analyser le mécanisme de cette stimulation réflexe à distance. Résumons brièvement les faits recueillis chez le chien, qui a été l'animal de choix pour cette étude :

1° Les mouvements de l'estomac stimulent ceux de l'intestin grêle et les mouvements du grêle ceux du côlon. Expér. de BEST et COHNHEIM sur des chiens à fistules.

2° DUBUS et SURMONT, ont fait une étude approfondie des réactions motrices à distance sur le côlon du chien, en employant le principe de l'entérographe. Ils ont trouvé que l'excitation électrique, chimique et mécanique, portée sur la muqueuse ou la musculaire des régions supérieures du tube digestif, déterminaient l'apparition des mouvements du côlon, engendrés, par des réflexes gastro-coliques et duodéno-coliques. Les mêmes réflexes ont parfois un effet inhibiteur.

3° La gustation, la déglutition, et encore plus l'arrivée des aliments dans l'estomac, augmentent le péristaltisme de l'intestin grêle (CASH).

4° Les mouvements d'une anse grêle isolée d'après la méthode THIRY-VELLA, suivis à l'aide des rayons X, sont très intensifiés sous l'influence d'un repas (STIERLIN).

OBSERVATIONS A LA FENÊTRE ABDOMINALE SUR LE RÉFLEXE GASTRO-COLIQUE, ETC.

Nous avons cité dans le chapitre antipéristaltisme 2 expériences, où la réplétion de l'estomac par un repas (viande) produisait une stimulation remarquable de l'antipéristaltisme dans le côlon, que celui-ci soit à l'état de plénitude ou à l'état de vacuité. Mais en général, dans les conditions physiologiques nous avons trouvé inconstant le jeu du réflexe gastro-colique. Par contre était-il facile de l'observer sous l'influence des purgatifs anthraquinoniques qui le renforçaient, en produisant une excitation de la muqueuse gastrique plus intense que celle d'un repas ordinaire. Le *séné* déclanchait le réflexe gastro-colique le plus marqué en produisant alors plus fréquemment des anneaux propulseurs que des mouvements de rétention. L'émodine de bourdaine, par la voie du réflexe gastro-colique, semblait stimuler de préférence l'antipéristaltisme et les anneaux toniques. Il est intéressant de noter que l'action irritante, sûrement légère, des anthraquinones sur la *muqueuse gastrique* se révélait plus nettement sur les mouvements coliques que sur ceux de l'estomac. Le temps qui s'écoulait de la réplétion de l'estomac jusqu'à la stimulation des mouvements coliques variait de 10, 20 à 30 min. selon la force de l'excitation, cette stimulation persistait d'½ à 1 h.

Réflexe iléo-colique. L'arrivée du séné dans l'iléon, par la voie de ce réflexe, donnait naissance dans le côlon à des *anneaux propulseurs* énergiques, qu'on n'y rencontrait jamais à l'état normal.

Dans plusieurs expériences on observait également une stimulation réflexe des mouvements de l'intestin grêle dû au contact des anthraquinones avec la muqueuse de l'estomac.

—

V. — Le péristaltisme de purgation.

1. L'ACTION PÉRISTALTOGÈNE D'INFUSION DE SÉNÉ.

D'après TSCHIRCH les feuilles de séné contiendraient environ 1 % *d'anthraquinones*, sous forme d'anthraglycosides et d'aglycones simples (anthraquinones sans le groupe sucre). La chimie du séné est encore peu connue. Il renferme un glycoside, en plus des aglycones comme l'acide chrysophanique et l'émodine d'aloès. On y trouve encore une résine qui aurait des propriétés purgatives.

Dans mes expériences j'ai réduit la teneur en résine à un minimum, en préparant l'infusion de séné à froid ou en la filtrant une fois refroidie. Nous avons employé une infusion de séné de 10 %.

a) **Chat 19.** 18. IV. 22. **Passage normal** (avec Citobaryum).

PROTOCOLE DE TOUS LES MOUVEMENTS COLIQUES OBSERVÉS PENDANT 10 H. ENVIRON A LA FENÊTRE ABDOMINALE.

L'estomac, quelques anses de l'intestin grêle et la plus grande partie du côlon sont visibles à la fenêtre.

Durant toute la journée : observation continue à la fenêtre. Le chat est maintenu au chaud à l'aide d'un coussin électrique.

8 h. 40. Ingestion à la sonde : 12 gr. citobaryum préparés avec 45 cm^3 d'eau.

8 h. 53. Côlon au repos.

Estomac : des ondes péristeltiques profondes passent continuellement sur l'estomac à raison de 6 ½ par minute. Durant 1 heure environ le péristaltisme de l'estomac garde la même animation. Vers 11 heures seulement les ondes décroissent.

Côlon : à 9 h. 5 m. Un *anneau de constriction* profond chemine dans l'ascendant sur une distance de 1 cm., en sens inverse. *(Anneau rétrograde).*

Intestin grêle : 9 h. 20′ on compte en un point 13 mouvements annulaires pendulaires, à sillons profonds, par minute, produisant des images de « *chapelet* ». Cette vive activité persiste d'une manière ininterrompue longtemps encore.

Côlon immobile. 9 h. 35′. Légère *contraction tubulaire* tonique du descendant avec rétraction vers le bassin.

*9 h. 45. *Radioscopie.* 1 heure après l'ingestion : l'estomac est déjà évacué au 2/3 ; l'intestin grêle visiblement rempli. * (1).

9 h. 55′ l'estomac et l'intestin grêle manifestent une *animation continue.* Côlon au repos. Le descendant reste longtemps dans un état *d'hypertonie cylindroïde* modérée tandis que l'ascendant est dilaté.

*10 h. 15′. *Radioscopie* (1 h. après l'ingestion). Estomac : 4/5 sont évacués. Intestin grêle : opaque ; côlon encore vide. *

10 h. 37′. Côlon au repos. La répartition de la tonicité est identique à celle de 9 h. 55′.

10 h. 40′. *Défécation :* le chat pousse si énergiquement avec les muscles abdominaux que le côlon entier disparaît dans le bassin ; après quoi un bol dur est expulsé. Immédiatement après, le côlon remonte dans la région de la fenêtre : le descendant est en forte *contracture tonique*, post-défécatoire et a l'aspect d'un crayon. L'ascendant est relâché et gonflé.

*10 h. 55′. *Radioscopie* (2 h. 1/4 après l'ingestion). Côlon encore vide. Petite ombre encore dans l'estomac. Grêle rempli. *

11 h. 10′. *Estomac :* les ondes péristaltiques deviennent plus lentes et superficielles. *Côlon au repos.* Descendant dans un état d'hypertonie permanent. Le chat sommeille.

11 h. 30′ à 11 h. 50′. Estomac : les ondes péristaltiques passent sans interruption sur cet organe. Intestin grêle : la tonicite a diminué, les mouvements de brassage continuent mais sont moins intenses. Côlon au repos. Hypertonie du descendant.

*11 h. 50′. *Radioscopie.* Estomac vide, grêle rempli. Côlon vide. *

12 h. à 12 h. 9′. Côlon au repos, tonus comme auparavant. — 12 h. 10′. Dans l'ascendant II : deux anneaux toniques fixes, superficiels, *en outre deux anneaux toniques fixes superficiels dans le descendant en hypertonie.* — 12 h. 18′ à 12 h. 22′. Ascendant relâché et gonflé ; descendant toujours en hypertonie. Au milieu du descendant

---

(1) Dans nos protocoles d'expériences nous avons mis entre astériques * toutes les observations radioscopiques. Tout autre texte se rapporte aux observations à la fenêtre abdominale.

on voit naître un *anneau de constriction tonique*, qui migre très lentement en sens *antérograde*, sur une distance d'1 cm. *(anneau à propulsion faible)*, pour aboutir à une *contraction tubulaire du descendant* II. — 12 h. 27′ à 12 h. 44′. L'estomac, vide depuis longtemps à la radioscopie, montre à la fenêtre une activité rythmique ininterrompue, 6 ondes par min., de force moyenne décroissante.

Intestin grêle : 12 contractions pendulaires, annulaires par min. *Côlon au repos*, ascendant relâché, descendant en état *d'hypertonie*.

*12 h. 50′. *Radioscopie :* 4 h. 10′ après l'ingestion. Côlon encore vide. *

1 h. à 1 h. 3′. Côlon au repos. — 1 h. 5′. Dans l'ascendant II, un anneau de constriction faible, migrant lentement en avant, se relâche vers 1 h. 7′ *(anneau à propulsion faible)*. 1 h. 7′ à 1 h. 9′ : au même point, où nous avons vu naître l'anneau précédent. il s'en produit un nouveau, qui se relâche peu après ; un troisième de courte durée également lui succède bientôt. — 1 h. 9′. Toujours au même endroit naît un *nouvel anneau* de constriction qui chemine cette fois lentement à ½ cm. en avant et se développe en une faible contraction cylindroïde du transverse. — 1 h. 12′. A la même place : *anneau* à faibles pulsations rythmiques. Transverse en état *d'hypertonie cylindroïde*, à 1 h. 15′ de nouveau relâché *(variations lentes de tonicité)*. — 1 h. 15′. Estomac toujours en activité péristaltique.

*1 h. 45′. *Radioscopie. Début de la réplétion colique.* Cœcum et première partie de l'ascendant remplis de baryum. *

1 h. 40′. L'hypertonie du descendant a disparu. — 2 h. à 2 h. 40′. Côlon toujours immobile, sauf 2 h. 15′ où il se produit un anneau tonique dans l'ascendant II.

*2 h. 50′. *Radioscopie :* 6 h. 10′ après l'ingestion. Côlon : 1/3 de l'ascendant opaque. *

3 h. à 3 h. 9′. Côlon entier relâché et au repos. — Grêle : mouvements pendulaires, annulaires, animés — 3 h. 10′ à 3 h. 40′. Côlon descendant en légère *hypertonie* cylindroïde et au repos.

*3 h. 55′. *Radioscopie.* Le tiers seulement du côlon ascendant est rempli. Depuis la dernière radioscopie l'ombre colique n'a pas progressé, ce qui correspond à l'absence de mouvements propulseurs à la fenêtre. *

4 h. 07′ à 4 h. 25′. Côlon au repos. — 4 h. 30′ à 4 h. 42′ repas de viande cuite. — 4 h. 40′. Péristaltisme de l'estomac nettement exagéré par le repas.

*4 h. 50′. *Radioscopie.* L'ombre colique n'a pas changé. *

4 h. 55′ à 5 h. Au milieu du transverse un *anneau tonique fixe*, suivi d'une *hypertonie prolongée*. — 5 h. 27′. Légère hypertonie continue de l'ascendant visiblement moins gonflé qu'avant le repos. *(Fluctuations de tonicité)*. — 5 h. 45′. Légère hypertonie tubulaire de l'ascendant II et du transverse, s'étendant plus tard jusqu'au descendant (fluctuations lentes de tonicité). — 5 h. 55′. Au transverse un large *anneau tonique* se propage très lentement un ½ cm. en avant. — 6 h. 10′. Légère et très lente *contraction tonique* de l'ascendant II, qui s'étend peu à peu au descendant, puis les deux segments persistent longtemps dans une légère hypertonie (fluctuations lentes de tonicité). — 6 h. 20′. Dans le transverse II : un *faible anneau tonique* migre quelques mm. en avant. *(Anneau à propulsion faible)*.

Fin de l'observation.

b) Chat 19. Infusion de séné et citobaryum.
(Voy. fig. B.1 à B.21 planches II, III, IV).

PROTOCOLE DE TOUS LES MOUVEMENTS COLIQUES :

19.IV.22. *Observation continue à la fenêtre*, associée à la radioscopie du même chat chez lequel nous avons observé le jour précédent le passage normal, que nous venons de décrire. Depuis l'ingestion du repas normal le chat n'a pas eu de selle.

8 h. 20'. *Défécation normale spontanée.* D'abord : onde de *péristaltisme tubulaire* le long du côlon descendant, très intense, en même temps on voit dans l'ascendant II, un profond *anneau tonique fixe*. Puis expulsion d'une selle molle, moulée contenant du baryum.

8 h. 25'. 25 cm³ *d'infusion de séné à* 10 % ; filtrés après refroidissement, mélangés à 12 gr. Citobaryum et 20 cm³ d'eau sont introduits dans l'estomac à l'aide de la sonde.

*8 h. 30'. *Radioscopie.* Estomac plein. Le sigmoïde et le rectum contiennent le reste du repas baryté précédent. *

8 h. 40'. Observation à la fenêtre :

Ire Phase : Excitation réflexe des mouvements propulseurs coliques (réflexe gastro-colique).

De 15 min. à 1 h. après l'ingestion du séné.

8 h. 40' à 8 h. 45'. Estomac : péristaltisme très animé. Grêle : mouvements continus de brassage.

8 h. 47'. Dans l'ascendant II : *ondes péristaltiques véritables, antérogrades*, superficielles, d'une longueur de propagation de 1 cm. Une minute plus tard dans le descendant : *anneau tonique fixe*. — 8 h. 55'. *Anneau tonique propulseur* large, profond, au milieu de l'ascendant, se propageant 2 cm. en avant dans l'espace de 2 min. — Simultanément un *second* anneau tonique stationnaire profond dans le descendant I. — 9 h. à 9 h. 25'. Côlon au repos. Tonus relâché. Estomac : produit continuellement des ondes péristaltiques profondes et très animées. — Grêle : mouvements de brassage vifs, normaux, figures de chapelets. — Le côlon, comme l'intestin grêle, n'offre pas encore d'hypérémie, leur couleur est d'un rose pâle.

*9 h. 30'. *Radioscopie.* 1 h. 5' après l'ingestion, le grêle commence à se remplir. Côlon vide. *

9 h. 35' à 9 h. 45' (voy. fig. B.1). Côlon au repos et relâché.

Grêle : Péristaltisme de brassage très animé en *figures de chapelet.* Des courtes ondes annulaires courent rythmiquement sur une longueur de 1 à 2 cm. avec une fréquence de 17 par min. — Estomac : toujours péristaltisme très actif. — 9 h. 50'. *Anneau tonique,* superficiel dans le transverse.

IIme Phase : Action directe du séné sur le côlon. Stimulation du péristaltisme colique propulseur.

(Temps compris de l'arrivée du séné au niveau du côlon à la première défécation).

(1 h. 35' à 2 h. ½ après l'ingestion du séné).

10 h. 05' (1 h. 35' p. c.). Fig. B2. *Ondes péristaltiques antérogrades* énergiques dans l'ascendant. Elles se répètent rythmiquement pendant deux minutes, parcourent la plus grande partie de l'ascendant. Leur profondeur et leur vitesse de propagation égalent celles des ondes péristaltiques normales de l'estomac.

10 h. 10'. *Ondes antipéristaltiques*, superficielles dans le transverse. — 10 h. 14'. *Ondes péristaltiques antérogrades*, profondes et rapides, dans l'ascendant, durant une période de plusieurs minutes. Les sillons de contraction se remarquent seulement sur le contour interne du côlon. — 10 h. 20'. Période de repos du côlon. — 10 h. 25'. *Période d'ondes péristaltiques antérogrades*. Dans l'ascendant I : image semblable à celle de 10 h. 14'. — 10 h. 26'. Côlon : période de repos.

10 h. 28' à 10 h. 32' (2 h. p. c.) fig. B3 et B4. Un *anneau de constriction, propulseur*

P. c. : post cœnam : après l'ingestion.

(antérograde), large et profond, chemine lentement de l'ascendant I jusqu'au transverse, tandis que de courtes *ondes antipéristaltiques* viennent se briser contre lui à intervalles réguliers. — *(Anneau propulseur avec zône d'antipéristaltisme située du côté distal).*

Fig. B4 montre le même anneau que fig. B3 2 min. après dans une phase plus avancée. — 10 h. 35' à 10 h. 37' un *anneau propulseur*, à constriction large et profonde se propage assez rapidement du cœcum jusqu'au transverse, il est associé à une *zône d'antipéristaltisme distale* semblable à celle de l'anneau précédent.

*10 h. 45' (2 h. 1/4 p. c.). *Radioscopie.* Le côlon ascendant et le descendant renferment déjà des ombres barytées. *

10 h. 55' (2 h. 25' p. c.) Fig. B.5 ; *un anneau propulseur*, large et profond migre du cæcum au transverse, tandis que la zone parcourue est en *hypertonie* partielle.

10 h. 57' (2 h. 27' p. c.) Fig. B.6 : *deux anneaux propulseurs* cheminent dans l'ascendant simultanément en avant ; sur une longueur de 1 cm. environ.— 10 h. 59' A la place des deux anneaux précédents, 1 *anneau propulseur*, large, qui parcourt 2 cm. de l'ascendant en sens antérograde.

11 h. 8' (2 h. 38' p. c.) Fig. B.7 : *période d'antipéristaltisme* survenant malgré la présence du séné dans le côlon : *des ondes antipéristaltiques rythmiques* cheminent à courts intervalles à travers l'ascendant entier. Les sillons de contraction n'apparaissent qu'au contour interne.

IIIme PHASE : STIMULATION DU GRAND PÉRISTALTISME TUBULAIRE AVEC DÉFÉCATIONS RÉPÉTÉES.

(S'étendant de 2 h. ½ à 5 h. ½ après l'ingestion du séné).

11 h. 14' à 11 h. 16', voy. Fig. B8,B9,B10, relevées, 2 h. 44', 2 h. 45' et 2 h. 45'½ après l'ingestion du séné. *Première grande onde de péristaltisme tubulaire et première défécation de purgation* : 11 h. 14' (fig. B8) : à la limite de la jonction de l'ascendant avec le transverse part une onde péristaltique à contraction maximale qui se propage vers le bas, avec une vitesse modérée. Avant que cette contraction violente qui a transformé le transverse en un tube pâle, rétréci au maximum, atteigne le descendant ; elle déclanche déjà directement le réflexe défécatoire et le chat expulse une selle semi-liquide, contenant du séné et du citobaryum. *(Déclanchement direct du réflexe défécatoire par une contraction violente du colon proximal).* 11 h. 15' Fig. B9 : pendant que *l'onde de péristaltisme tubulaire* se propage plus loin, le long du descendant, l'ascendant entier se contracte en boule par une *contraction tonique générale* (voir fig. B10. 11 h. 15 ½'). Le péristaltisme tubulaire finit par rétrécir en tube mince le descendant entier, entre temps l'ascendant se relâche peu à peu. 11 h. 52' fig. B. 11 : l'ascendant complètement relâché, le descendant I en état de *contracture post-défécatoire.* 11 h. 22' seulement, le descendant s'est peu à peu relâché. Ensuite période de repos du côlon.

*11 h. 30'. *Radioscopie.* 3 h. après l'ingestion du séné. Côlon vide. Dans l'estomac et le grêle : reste de baryum.*

Deuxième série d'ondes de grand péristaltisme tubulaire et 2me défécation de purgation 11 h. 43' (3 h. 13' p. c.) fig. B12, B13, B14 :

Fig. B12 : une première onde antérograde chemine rapidement du cæcum au sigmoïde et transforme le côlon en un tube mince. Puis (fig. B13 et B14) une seconde onde de contraction courant aussi du cæcum au sigmoïde, renforce le travail de la première. Le côlon entier est *extrêmement rétréci, d'une paleur cadavérique*, et *fortement raccourci* voy. p. c. l'ascendant très court, fig. B14, le raccourcissement du descendant attire le côlon dans le bassin. La défécation se produit quand la seconde onde arrive aux parties terminales. *Selle semi-liquide, contenant du séné* et du citobaryum. 11 h. 44'

fig. B.15, ascendant en partie relâché, descendant en *contracture tubulaire, post-défécatoire*. 11 h. 44 à 1 h. 25'. *Côlon : longue période de repos*. 12 h. 55', fig. B.16. Côlon entier relâché et dilaté, remonté vers le haut, a repris sa place normale.

*12 h. 50'. *Radioscopie*. Reste de baryum dans l'estomac davantage encore dans le grêle ; ombres barytées de faible intensité disséminées dans tout le côlon ascendant. *

Quoique une nouvelle portion de baryum, mélangée à du séné, se soit accumulée dans le côlon, celui-ci persiste dans un état de repos, qui se prolonge durant 1 h. ½ et plus. Il semble que la décharge explosive de la force musculaire qui a conduit aux dernières contractions violentes, produise un état passager de fatigue et *d'épuisement de la motricité colique*.

IVme PHASE D'EXCITATION SPASMODIQUE ET D'HYPÉRÉMIE DE L'INTESTIN GRÊLE. (Voir fig. I et II, page 127).

De 3 h. ½ à 5 h. ½ après l'ingestion du séné.

Dès 12 h., les mouvements du grêle, qui auparavant étaient très animés mais de forme normale, changent de caractère et acquièrent un aspect anormal. On ne voit plus se former rythmiquement les images normales de chapelet ; les ondes péristaltiques se propagent à une distance plus grande, mais la propagation est plus lente et semble être pénible comme si la contraction avait à vaincre un obstacle, les *chapelets sont remplacés* par d'autres images qui rappellent de longs *tubes* ou « *cordes* » fortement contractés, semblable à ceux du côlon, précédés d'un segment extrêmement relâché et dilaté.

Ce péristaltisme tubulaire est une forme de contraction *anormale* de l'intestin grêle. (Voy. aussi chapitre mouvements normaux). *Sous l'influence du séné un facteur tonique et spasmodique* a été surajouté au caractère nettement rythmique des mouvements normaux du grêle.

---

1 h. 25 m. *Anneau* de constriction dans le cæcum, se transforme en une faible onde tubulaire, de l'ascendant. 1 h. 30' (5 h. après l'ingestion du séné). *Période d'antipéristaltisme*, de très belles ondes antipéristaltiques courent rythmiquement à travers l'ascendant. Descendant en hypertonie cylindroïde.

1 h. 34', fig. B.17 à B.21 (5 h. 4' après l'ingestion). *Grande onde de péristaltisme tubulaire avec 3me défécation de purgation*. Le cours de cette onde a été décrit en détail dans le chapitre péristaltisme cylindr. (voy. page ?). — Puis longue période de repos. — 1 h. 37' côlon entier encore en *hypertonie post défécatoire* partielle; à 1 h. 55' seulement sa tonicité est devenue à peu près normale. — 2 h. 07', 4me selle de purgation, dont on ne pouvait pas suivre le péristaltisme, le côlon ayant disparu dans le bassin.

*2 h. 20'. *Radioscopie*. Estomac vide. Côlon vide, dans le grêle quelques petits restes opaques. *

Vme PHASE : DÉCLIN DE L'ACTION PURGATIVE. LONGUES PÉRIODES DE REPOS DU CÔLON.

De 3 h. à 4 h. 27 :

L'estomac, quoique complètement vide, persiste en activité péristaltique, 6 ondes par minute.

Intestin grêle : légère hypérémie. L'excitation spasmodique est à son déclin, mais la longueur de propagation des ondes du péristaltisme de brassage reste encore exagérée, (2 à 3 cm. au lieu de ½ à 1 cm.), mais il ne se produit *plus de formes tubulaires toniques*.

Côlon : toujours au repos, montre une *hyperémie* très nette.

De 4 h. 40′ à 5 h. 20′, interruption de l'observation.

5 h. 20′, reprise de l'observation continue : on trouvait une cinquième selle de purgation, semi-liquide, et le côlon demeure en contracture, probablement post-défécatoire. 5 h. 35′. Repas de viande. — 5 h. 51′. Côlon toujours en état de contracture partielle.

Effet de l'atropine sur l'hypertonie colique produite par le séné. Ayant trouvé le côlon dans un état d'hypertonie post-défécatoire, portant sur les fibres circulaires aussi bien que sur les fibres longitudinales, je me suis proposé d'étudier si l'atropine était capable de diminuer cette hypertonie.

6 h. Injection hypodermique de 3 mgr. de sulfate d'atropine. Peu après on voit le péristaltisme de l'estomac se ralentir et s'étaler, tandis que les pupilles sont dilatées ad maximum. L'atropine est incapable de supprimer l'hypertonie colique post-défécatoire. Pourtant on voit un léger effet de relâchement, intéressant surtout le tonus des fibres longitudinales. A 6 h. 10′ le côlon était sensiblement allongé. 6 à 7 h. *Côlon toujours au repos.*

(Fin de l'observation).

c) Résumé des résultats.

Action péristaltogène de l'infusion de séné.

Chat 19. Comparaison entre journée normale et journée de purgation.

En mettant en parallèle les mouvements observés durant un même temps après l'ingestion, nous ferons ressortir les différences essentielles entre le passage normal et la journée de purgation.

A. Mouvements coliques.

Ire PHASE : EXCITATION DES MOUVEMENTS PROPULSEURS COLIQUES, PAR LA VOIE DU RÉFLEXE GASTRO-COLIQUE :

Entre 18′ et 35′ après l'ingestion du séné, apparaissaient dans le côlon une période *d'ondes péristaltiques* antérogrades, et un *anneau tonique propulseur.*

Durant le temps correspondant à celui du *passage normal* le côlon était presque toujours au repos, on remarquait un seul anneau tonique, rétrograde. Le séné produisait donc déjà une stimulation des mouvements coliques propulseurs pendant qu'il se trouvait encore au niveau de l'estomac. Il renforçait le réflexe *gastro-colique,* qui d'ailleurs ne se faisait guère sentir dans le passage normal précédent. Le séné stimulait ce réflexe par l'irritation de la muqueuse gastrique, irritation légère, puisqu'elle se remarquait à peine dans le renforcement du péristaltisme gastrique, dont les ondes devenaient un peu plus profondes que normalement.

IIme PHASE : DÉBUT DE L'ACTION DIRECTE SUR LE CÔLON :

De 1 h. 35' à 2 h. ½ après l'ingestion du séné.

Aussitôt après l'arrivée du séné au niveau du côlon, il y avait par le fait du contact avec la muqueuse colique *stimulation du péristaltisme propulseur*. La période de l'excitation latente dans le côlon était donc courte pour le péristaltisme propulseur, mais une heure environ s'écoulait avant que cette excitation péristaltique amena la première défécation. Pendant cette période on a observé dans le côlon ascendant 10 *périodes actives: dont* 3 *périodes à ondes péristaltiques antérogrades*, 6 *anneaux de constriction propulseurs à long* trajet antérograde et à progression assez rapide ; 2 anneaux étaient associés à une petite *zone distale d'antipéristaltisme*, de plus on observait une période à longues ondes *antipéristaltiques* dans l'ascendant et une à ondes plus faibles dans le transverse.

Par contre le côlon, pendant le temps correspondant du *passage normal*, était presque continuellement *au repos*, à l'exception d'une période de défécation. *Les ondes péristaltiques antérogrades* (fig. B2) provoquées par le séné ne s'observaient d'ailleurs jamais à l'état normal, pas plus que les anneaux propulseurs énergiques à long trajet.

Le contact du séné avec la muqueuse colique *provoquait donc aussitôt une stimulation très nette des mouvements propulseurs* bien plus forte que celle produite dans la phase précédente par le réflexe gastrocolique.

Actions du séné sur les mouvements de rétention: le contact direct du séné avec le côlon inhibait les mouvements de rétention. On ne voyait plus d'anneaux toniques fixes ou rétrogrades, mais seulement des anneaux antérogrades. L'antipéristaltisme était également affaibli mais pas encore supprimé durant cette deuxième phase.

IIIme PHASE : DÉCLANCHEMENT DU GRAND PÉRISTALTISME TUBULAIRE ET DES DÉFÉCATIONS RÉPÉTÉES.

(De 2 h. ½ à 5 h. ½ après l'ingestion de 25 cm^3 d'infusion de séné). Cette phase était déterminée par la présence de quantité considérable de séné dans le côlon. L'effet purgatif atteignait son maximum, 4 selles semi-liquides se succédaient dans l'espace de 3 heures. C'était la phase la plus caractéristique de l'action purgative et péristaltogène du séné.

L'on rencontrait 4 périodes d'activité propulsive extrêmement intense, constituées d'ondes énergiques de grand *péristaltisme tubulaire*, qui amenaient consécutivement l'évacuation de 4 *selles semi-*

liquides, contenant du séné. Dans cette phase il n'y avait plus que *les grandes ondes antérogrades de péristaltisme tubulaire* ; tous les mouvements de rétention ainsi que *l'antipéristaltisme étaient complètement supprimés*.

Le caractère de la journée de purgation montrait un contraste saillant, si nous le comparons à celui de la phase correspondante du passage normal, où nous avons noté 5 anneaux toniques fixes, 1 anneau stationnaire à pulsation, 3 anneaux faiblement propulseurs, c'est-à-dire à progression très lente sur un trajet de ½ à 1 cm. seulement.

La motricité de rétention normale était *transformée par le séné en une motricité colique énergique propulsive*, qui empêchait la stagnation normale et par suite la résorption colique.

Ce changement explique entièrement la production d'évacuations liquides. Rappelons encore que normalement le contenu du grêle passant dans le côlon, a la même consistance semi-liquide que les selles de purgation. Il n'est donc pas nécessaire d'invoquer une action excito-sécrétoire du séné.

Sous l'influence du séné, des contractions tubulaires violentes du côlon proximal avaient à deux reprises déclanché directement le réflexe de la défécation *(zone d'excitation proximale)* tandis qu'à l'état normal la zône d'excitation de ce réflexe était limitée au côlon distal.

Contracture post-défécatoire. Le séné la renforçait sensiblement, elle devenait plus intense et beaucoup plus longue qu'à l'état normal.

Longues périodes de repos entre les selles : après chaque grande décharge, sous la forme du grand péristaltisme cylindroïde, la motricité colique semblait être épuisée et on voyait apparaître des périodes de repos, d'une durée de 1 à 2 heures, qui séparaient les 4 périodes de grand péristaltisme tubulaire. Après la défécation et ses contractions violentes le côlon restait longtemps immobile bien que la radioscopie décelait déjà l'arrivée de nouvelles quantités de séné dans le côlon.

IVme PHASE : DÉCLIN DE L'ACTION PÉRISTALTOGÈNE.

Dès que le séné était entièrement évacué, le côlon devenait immobile pendant des heures et de nouvelles selles ne se succédaient qu'à de très longs intervalles.

B. Modification spasmo-tonique des mouvements du Grêle.

Pendant le passage normal, le grêle offrait uniquement les formes de contraction normales et rythmiques de chapelet, le séné au courant de son passage à travers l'intestin grêle (3 h. ½ à 5 h. ½ après l'ingestion) provoquait une *transformation tonique* de ces mouvements,

c'est-à-dire faisait naître le *péristaltisme tubulaire* à caractère semi-tonique semblable à celui qu'il engendrait dans le côlon. Le grêle vidé,

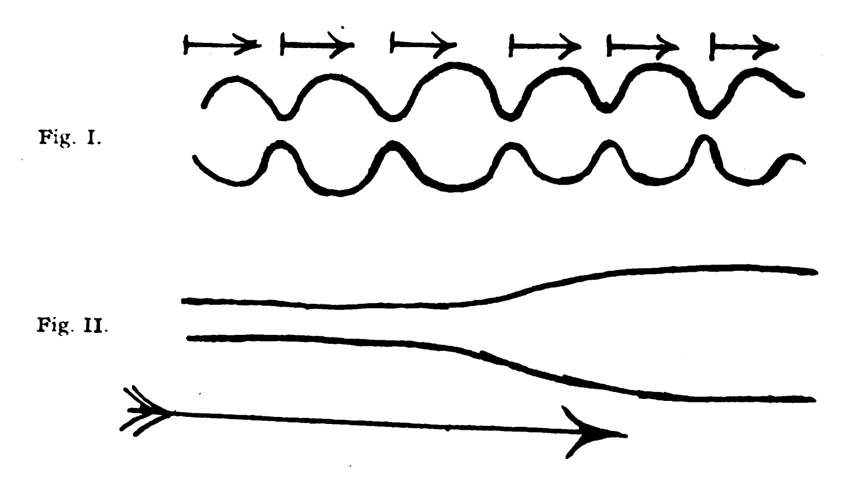


Fig. I et II ; Desseins schématiques illustrant la modification spasmo-tonique des mouvements rythmiques du grêle sous l'action du séné.

Fig. I : Mouvements pendulaires-péristaltiques rythmiques normaux. Péristaltisme de brassage, à courte progression. (•—→) formes de chapelets.

Fig· II : Péristaltisme tubulaire du grêle avec lente progression à plus longue distance (•—→). Modification spasmo-tonique sous l'action du séné.

ses mouvements reprenaient graduellement l'aspect normal : le trajet parcouru par les ondes péristaltiques diminuait, le facteur tonique s'affaiblissait, la rythmicité devenait prépondérante, et le lendemain les formes normales de chapelet étaient complètement restituées.

2. L'ACTION PÉRISTALTOGÈNE DE LA SENNATINE (EXTRAIT DE SÉNÉ.)

La Sennatine introduite en thérapeutique par B. Crédé est un extrait aqueux concentré et purifié du séné, qui semble contenir les anthraquinones actives du séné, mais pas sa résine. 1 cm^3 de sennatine serait équivalent à ½ gr. de feuilles de séné. Cette préparation ne produit pas d'irritation locale notable et est pour cela fréquemment utilisé en injection sous-cutanée. Nous l'avons employée pour comparer l'image du péristaltisme des anthraquinones pures à celle donnée par les anthraquinones associés à la résine. Ruegger, Koestlbacher et Paratschuk ont étudié l'effet purgatif de la sennatine.

a) Chat N° 74. Protocole de l'expérience avec la sennatine 28 nov. (Voy. fig. C1 à C21).

Sur ce chat nous avons pratiqué le 28 novembre une grande fenêtre abdominale, qui rendait visibles le côlon entier jusqu'au sigmoïde, plusieurs anses grêles et une partie de l'estomac.

Avant cet essai, le 5, 6 et 7 décembre, *observation continue* durant plusieurs heures, dans les conditions normales.

8 décembre, 22, 8 h. 30', 7 cm³ *de sennatine* (= 3,5 de feuilles de séné) mélangé à 12 gr. citobaryum et 35 cm³ d'eau, ingéré à l'aide de la sonde.

Ire PHASE : RÉFLEXE ILÉO-COLIQUE.

*9 h. 55'. Radioscopie : estomac à moitié vide, grêle bien rempli, côlon vide. *

10 h. à 10 h. 30'. Côlon en *repos*, relâché. Voy. fig. C1. 10 h. 35' fig. C2 (2 h. 05' après l'ingestion) un *anneau de constriction, propulseur*, profond, migrant en sens antérograde, du cæcum au transverse. (Excitation, réflexe à distance des mouvements coliques propulseurs, provoquée par l'arrivée du séné dans l'iléon).

Longue période de repos.

* 10 h. 45' (2 h. 15' après l'ingestion). *Radioscopie :* estomac vide, grêle plein, *côlon vide* *.

10 h. 50'. *Un anneau propulseur*, peu profond, cheminant de l'ascendant au transverse. — 10 h. 55' à 11 h. 20' côlon au repos, dilaté, voy. fig. C3.

IIme PHASE : ACTION DIRECTE DE LA SENNATINE SUR LE CÔLON. — EXCITATION DU GRAND PÉRISTALTISME TUBULAIRE SANS DÉFÉCATION.

(De 2 h. 55' à 3 h. 50' après l'ingestion).

* 11 h. 25', 2 h. 55' après l'ingestion. *Radioscopie*, iléon plein, début de la *réplétion colique.* *

11 h. 30'. Côlon au repos, relâché. — 11 h. 33' (3 h. après l'ingestion) voy. fig. C4. Premier grand péristaltisme tubulaire déclanché quelques minutes après l'arrivée du séné dans le côlon : *une onde de péristaltisme tubulaire*, très intense débute au cæcum et parcourt le côlon entier, en sens *antérograde*, les parties contractées en tube ont une paleur cadavérique. Fig. C4 est prise au moment où cette onde a atteint le descendant I; l'ascendant et le transverse sont déjà contractés en tubes, l'espace vide entre le transverse et le descendant correspond à un étranglement profond, qui, à la fenêtre, semble couper le côlon en deux parties.

11 h. 38', 3 h. 8' p. c. *Deuxième grand péristaltisme tubulaire*, fig. C5 : une onde antérograde très intense chemine rapidement du cæcum au sigmoïde, transforme le côlon en un tube mince qui, au début est d'une pâleur extrême. L'onde évolue en *contraction tonique générale, qui raccourcit fortement le côlon* (fig. C5). Malgré leur grande force propulsive, ni la première contraction tubulaire, ni celle-ci n'ont pu provoquer la défécation, est-ce parce que le contenu était encore en quantité insuffisante pour distendre le rectum?

Iléon : mouvements plus animés qu'à l'état normal, mais de forme normale (chapelets).

* 11 h. 50' (3 h. 20' p. c.). *Radioscopie :* grêle plein. Côlon première partie de l'ascendant : ombres marmorées. Le séné empêche une réplétion homogène et dense du côlon. *

11 h. 55' (3 h. 25' p. c.). *Péristaltisme tubulaire*, du descendant, lequel pâlit forte

ment et persiste durant une minute en contracture tonique. — 11 h. 58′. Hypertonie très légère du côlon entier. Fig. C6, repos. — 12 h. 5′ (3 h. 25 p. c.). *Contraction tonique générale* (fig. C7), du côlon entier qui se raccourcit et diminue de calibre en même temps

Plusieurs anneaux propulseurs antérogrades, profonds, cheminent le long du côlon en état de contracture, du cæcum au sigmoïde. Puis à deux reprises de *grandes ondes de péristaltisme tubulaire* ; malgré cette période de propulsion très active, pas de selle.

Iléon : Toujours très animé, 17 à 19 contractions de brassage par min., donc fréquence normale, mais assez souvent des formes de *contractions anormales tubulaires*. Cette fois : *faible excitation spasmodique du grêle* par la sennatine, est-ce dû à l'absence de résine?

De 12 h. 10′ à 12 h. 20′. Côlon : période de repos.

IIIme PHASE : ACMÉ DE LA PURGATION, DE NOMBREUSES ONDES DE GRAND PÉRISTALTISME TUBULAIRE ET DÉFÉCATIONS RÉPÉTÉES.

(De 3 h. 52′ à 7 h. 30′ après l'ingestion de sennatine).

*12 h. 22′ (3 h. 52′ p. c.). *Première défécation* (séné) durant la radioscopie : on voit, à l'écran, une ombre cylindroïde migrer du descendant dans le rectum, puis évacuation d'une selle semi-liquide, contenant de la sennatine et du citobaryum, le séné entrave la réplétion compacte des parties proximales, fait, déjà constaté par Magnus. *

12 h. 25′. Fig. C9 : relevée à la fenêtre, 3 h. 55 p. c. Ascendant contracté en boule, reste en *contracture post-défécatoire* pendant 1/4 d'heure. Descendant relâché, dilaté, Repos colique.

12 h. 50′. Fig. C10 (4 h. 15′ p. c.) : ascendant de nouveau relâché ; on est frappé par l'immense différence de longueur de l'ascendant en comparant la fig. C9 et la fig. C10. Côlon au repos. 12 h. 52′. *Une contraction tonique*, tubulaire, du cæcum et de l'ascendant I, disparaît rapidement, puis se répète plusieurs fois. 12 h. 54′ à 1 h. 10′ côlon au repos. 1 h. 10′. Repas carné. 1 h. 12′ fig. C11. *Deux ondes de péristaltisme tubulaire, antérogrades*, surgissent simultanément : une première chemine le long de l'ascendant, une seconde le long du descendant, puis elles se défont. Le tonus des fibres longitudinales reste relâché, d'où résulte l'image de serpentin (Fig. C11).

1 h. 17′ (4 h. 47′ après l'ingestion) : simultanément deux *anneaux à propulsion modérée* (Fig. C12), l'un dans le cæcum, le second dans le transverse, en même temps *contraction tubulaire tonique* du descendant, et pâleur intense.

* 1 h. 30′, 5 h. p. c. *Radioscopie* : grêle encore ombré. Côlon ascendant et sigmoïde opaques. *

1 h. 33′. Côlon relâché, inactif. (Fig. C13). De 1 h. 30′ à 3 h. 20′ longue période de repos du côlon, observation interrompue par moments. 3 h. 20′ second repas carné.

3 h. 34, (7 h. 4′ après l'ingestion) *grand péristaltisme tubulaire avec seconde selle de purgation* (sennatine) fig. C14 : une onde de contraction cylindroïde intense, *antérograde*, court du cæcum au sigmoïde. Dans la fig. C14, nous reproduisons l'image au moment où cette onde parcourt le descendant, qu'elle transforme en tube étroit, pâle, tandis que l'ascendant est déjà relâché. Le pointillé correspond à la première phase : contraction tubulaire de l'ascendant. L'évacuation d'une selle semi-liquide, contenant de la sennatine et du baryum, a lieu lorsque l'onde atteint le sigmoïde. — 3 h. 40′ à 3 h. 49′. Côlon au repos, relâché et dilaté (fig. C15, 7 h. 6′ p. c. et fig. C16, 7 h. 15 p. c.).

* 3 h. 45′ (7 h. 15′ p. c.). *Radioscopie :* grêle vide, ascendant ombre continue, peu intense. *

3 h. 50′, 7 h. 20′ après l'ingestion : *grand péristaltisme tubulaire, propulseur* (Fig. C17). Une onde intense, rendant les parties contractées absolument pâles, court du

cæcum au sigmoïde, la Fig. C17 représente le moment où l'onde atteint le transverse, l'interruption du contour colique dans le transverse correspond à un étranglement maximal disparaissant dans la profondeur de la cavité abdominale. Le pointillé de la fig. C17 marque le moment où l'onde atteint le descendant I. Pas de selle malgré la grande force propulsive de ce mouvement (réplétion insuffisante du côlon pour distendre le rectum).

IVme PHASE : DÉCROISSANCE DE L'ACTION PÉRISTALTOGÈNE ET PURGATIVE.

(Entre 7 h 30′ et 10 h 45′ après l'ingestion de sennatine), de nombreux anneaux de constriction, pro- pulseurs, énergiques :

De 4 h. à 6 h. Côlon : longue période de repos, (voy. Fig. C18) à l'exception d'un *anneau tonique fixe* au transverse à 5 h. 40. — 6 h. 01′. *Un anneau propulseur*, migre lentement du transverse au descendant. — De 6 h. 02′ à 6 h. 10′. *Période de repos*. — 6 h. 11′. *Deux anneaux propulseurs*, profonds simultanés : Le premier chemine du milieu de l'ascendant au transverse, le second du transverse au milieu du descendant, puis ils se relâchent. — 6 h. 13′. Un anneau propulseur, profond, chemine du cæcum au transverse. — 6 h. 16′ : *Deux anneaux propulseurs, profonds*, l'un au transverse, l'autre au descendant II. — 6 h. 18′. *Deux anneaux propulseurs, profonds, simultanés*. (Fig. C19). Le premier chemine de l'ascendant au transverse II, le second naissant un peu plus tard, chemine du transverse II au sigmoïde. — 6 h. 19′ courte période de repos.

6 h. 20′ (9 h. 50′ après l'ingestion de sennatine), deux *anneaux propulseurs*, profonds et simultanés (fig. C20). Le premier avance lentement du cæcum au milieu du descendant, le second du milieu du descendant au sigmoïde. — 6 h. 22′ à 6 h. 45′ longue période de repos colique, inaction. — 6 h. 46′ *un anneau propulseur* dans l'ascendant. — 6 h. 47′ (10 h. 17′ après l'ingestion) *deux anneaux propulseurs*, profonds, simultanés : le premier (fig. C21) migre lentement du cæcum au transverse, en s'arrêtant de temps à autre, le contour pointillé de la fig. C21 correspond aux étapes successives de sa progression. Le second anneau antérograde chemine le long du descendant. — 6 h. 48′. *Un anneau propulseur*, profond, migre du cæcum au transverse. — A 6 h. 54′ et à 6 h. 59′ *un anneau propulseur* profond, avance le long du descendant. — 6 h. 59′ *un anneau propulseur*, profond, dans le transverse. — 7 h. 02′. Deux *anneaux propulseurs*, profonds simultanés, le premier avance rapidement du cæcum au transverse et se défait ; le second chemine le long du descendant. — 7 h. 04′. *Anneau propulseur*, profond, chemine du cæcum au transverse et s'arrête ; puis naît un centimètre en-dessous, un second *anneau propulseur* avançant lentement jusqu'au sigmoïde, après quoi le premier se relâche.

7 h. 07′. *Un anneau propulseur*, superficiel, dans l'ascendant. — 7 h. 08′. *Anneau propulseur*, du transverse au descendant I.

7 h. 12′. *Anneau propulseur*, superficiel dans l'ascendant.

7 h. 15′ (donc 10 h. 45′ après l'ingestion de sennatine) fin de l'observation.

Le lendemain matin *(deuxième journée de sennatine)*, on trouve sur la couche de l'animal une grande quantité de selle liquide contenant encore de la sennatine et du baryum. De 9 h. 48′ à 10 h. 36′ (donc 25 h. environ après l'ingestion de sennatine). Reprise de l'observation continue à la fenêtre : Deux fois le côlon entier est traversé par une grande onde de *péristaltisme tubulaire*, dont l'une prend son point de départ dans un anneau tonique. En outre nous observons encore deux fois, *un anneau tonique* et le reste du temps le côlon est inactif.

Continuation de l'observation, l'après-midi entre 4 et 6 h. en général le côlon est beaucoup plus *inactif* que le jour précédent. Cependant les mouvements propulsifs sont encore plus fréquents qu'à l'état normal.

b) Résumé des résultats de l'expérience sur le chat 74 avec la Sennatine.

A. MOTRICITÉ COLIQUE NORMALE DU CHAT 74.

Régime carné, journée normale : plusieurs périodes *d'antipéristaltisme*, de fréquents *anneaux toniques fixes*, et quelques rares *anneaux toniques* à faible *propulsion* (Progression : ½–2 cm.). On observe pas de péristaltisme tubulaire. Longues et *fréquentes périodes de repos* du côlon.

B. *Motricité colique de purgation du chat* 74 (sennatine) : durant la journée qui suit l'ingestion de sennatine la motricité devient plus animée, et montre un *caractère* nettement *propulsif*. Aussi longtemps que des quantités notables de sennatine sont en contact avec la muqueuse colique, on voit se former *les figures typiques du péristaltisme de purgation*, à savoir

1° *Grand péristaltisme tubulaire,*

2° *Anneaux propulseurs énergiques* (ou antérogrades).

Ire *Phase:* dans cette expérience, on ne remarque pas de stimulation du réflexe gastro-colique, mais, par contre, celle du *réflexe iléo-colique*, c'est-à-dire que la présence du séné dans l'ilion suffit à déclancher un *anneau propulseur énergique*, dans le côlon.

IIme *et* IIIme *Phase:* déjà 5minutes après l'arrivée de la sennatine au niveau du côlon, le péristaltisme colique est grandement stimulé et l'on voit souvent de fortes et grandes ondes de *péristultisme tubulaire* progresser tout le long du côlon.

Lorsque les doses étaient assez fortes, comme dans cet exemple (2 ½ gr. de feuilles de séné p. ex.), il suffisait de quelques minutes de *contact entre la muqueuse colique et le séné* pour que celui-ci manifeste son action péristaltogène. Mais par contre, il fallait *une heure de contact. avec la muqueuse colique pour que le séné déclanche la première défécation.* On peut se demander pourquoi les mouvements propulseurs nombreux et très énergiques, qui apparaissaient entre temps, n'accéléraient pas davantage la défécation. Il semble qu'il faut en chercher la raison dans le fait que le contenu colique n'était pas encore suffisamment volumineux pour que son déplacement dans les parties terminales produise une *distension du rectum.* (Excitation spécifique).

Durant la première journée succédant l'ingestion de sennatine, le chat évacue 2 selles semi-liquides, une 3 h. 52', l'autre 7 h. 41' après l'ingestion. Dans les deux cas le grand *péristaltisme cylindroïde* du côlon entier constituait le mouvement de défécation. Après les défecations : longues périodes de repos.

*IV*me *Phase :* la seconde défécation avait vidé le tube digestif à l'exception de quelques restes du mélange (baryum-sennatine). Ceux-ci suffisent pour stimuler les *anneaux propulseurs* du côlon, pendant

plusieurs heures encore. Nous avons noté au côlon en l'espace d'une heure 23 *anneaux propulseurs* profonds, à longue progression, (de 9 h. ½ à 10 h. ½ après l'ingestion du séné), tandis que pendant le temps correspondant de la journée normale, les anneaux propulseurs n'offraient qu'une courte progression et ne se voyaient que rarement.

B. INHIBITION DE L'ANTIPÉRISTALTISME PAR LA SENNATINE.
(Chat 74).

En dépit d'une observation presque continue il n'a pas été possible de constater des ondes antipéristaltiques, ni le premier jour succédant l'ingestion de sennatine ni le second. Sur le même animal, observé antérieurement durant 3 jours à l'état normal, l'antipéristaltisme colique se manifestait par contre régulièrement, quoique peu fréquemment.

C. EXCITATION SPASMO-TONIQUE DES MOUVEMENTS DE L'INTESTIN GRÊLE (Sennatine).

Entre 3 h. ½ et 4 h. après l'ingestion, on remarque une modification tonique des mouvements rythmiques du grêle. Mais dans cette expérience le caractère spasmodique est bien moins prononcé que sous l'influence de l'infusion de séné (chat 19). Est-ce parce que la sennatine ne contiendrait pas ou moins de résine? Cette question fera encore l'objet d'une communication ultérieure.

c) Chat N° 5. Expérience avec la sennatine et le bismuth.
(Voy. fig. D1 à D4, planche VI) 15, IV. 22.
Protocole raccourci de l'observation à la fenêtre.

8 h. 30', 7 cm³ *sennatine* (égale à 3,5 gr. de feuilles de séné) mélangés à 8 gr. de carbonate de *bismuth* et 40 gr. de viande maigre, cuite, administrés par voie buccale. Ce mélange, solide, est évacué beaucoup plus lentement par l'estomac, que le mélange sennatine-citobaryum, liquide, donné au chat 74 dans l'expérience précédente. 10 h. après l'ingestion, l'estomac contient encore un tiers du mélange solide. C'est pourquoi l'action péristaltogène sur le côlon apparaît quelques heures plus tard que dans l'expérience faite au citobaryum (chat 74).

Ire PHASE : EXCITATION INDIRECTE DES MOUVEMENTS COLIQUES PAR DES RÉFLEXES A DISTANCES (gastro-colique, iléo-colique).

1re *Période*, succédant à l'ingestion de la sennatine. Durée 1 h. 20'. Côlon presque continuellement au *repos*. On note une seule période active, 1 h. 20' après l'ingestion : défécation, selle molle et moulée, sans bismuth, paraît être provoquée par le reflexe gastro-colique. A 10 h. 35' l'estomac n'a encore évacué aucune trace de bismuth.

2me *Période : stimulation réflexe à distance, des mouvements de* ***rétention du côlon*** (réflexe gastro-colique).

(De 1 h. 20′ à 3 h. 20′ après l'ingestion de sennatine).

Côlon : de courtes périodes actives alternent assez régulièrement avec des périodes de repos, plus longues. Ces périodes actives sont constituées : 9 fois par des *ondes antipéristaltiques* rythmiques de l'ascendant et du transverse, 5 fois par des *anneaux toniques fixes*, souvent aplatis dans les mêmes régions. Nous trouvons donc exclusivement une *motricité de rétention*, typique au côlon normal. Mais les périodes actives sont plus fréquentes et les ondes antipéristaltiques plus amples qu'à l'état normal chez le même animal. Le contact de la sennatine avec la muqueuse gastrique provoque cette stimulation, par la voie du *réflexe gastro-colique*.

3me *Période : stimulation réflexe à distance des mouvements propulseurs coliques, réflexe iléo-colique*. (De 3 h. 20′ à 5 h. après l'ingestion). *Antipéristaltisme* encore visible. Une grande partie de la sennatine se trouve encore dans l'estomac, mais la stimulation des mouvements *propulseurs* coliques semble être due à la présence du séné dans l'iléon. 12 h. (3 ½ h. p. c.). *Anneau propulseur* au transverse, progressant sur un trajet de 2 cm., associé à une *zône distale* de courtes ondes antipéristaltiques. 12 h. 47′. *Grand péristaltisme cylindroïde* du descendant, suivi d'une expulsion de gaz. 1 h. 05′. *Ondes antipéristaltiques* peu intenses dans l'ascendant I.

1 h. 06′. *Un anneau propulseur*, progresse du milieu de l'ascendant au transverse, associé à une zone distale de courtes ondes *anti-péristaltiques*.

IIme ET IIIme PHASE : ACTION DIRECTE DE LA SENNATINE SUR LA MUQUEUSE COLIQUE, STIMULATION DU GRAND PÉRISTALTISME PROPULSEUR, CYLINDROÏDE. DÉFÉCATIONS LIQUIDES, RÉPÉTÉES, INHIBITION COMPLÈTE DE L'ANTIPÉRISTALTISME COLIQUE.

1 h. 35′ (5 h. 5′ après l'ingestion de sennatine) : 1re *selle, semi-liquide, contenant de la sennatine*, précédée d'une grande onde de *péristaltisme tubulaire*, progressant du cæcum au sigmoïde. Puis longue période de *repos du côlon*.

2 h. 23″ (5 h. 53′ après l'ingestion), 2me *selle* de purgation semi-liquide, provoquée également par le *grand péristaltisme* cylindroïde du côlon entier. — Puis longue période de repos. — 4 h. 12′ (7 h. 42′ après l'ingestion) : 3me *selle de purgation*, semi-liquide évacuée pendant la radioscopie. — Longue *période de repos*.

* A la radioscopie, faite à 5 h. 30′, (donc 9 h. après l'ingestion), l'ascendant et le descendant contiennent des masses opaques *

5 h 37′ (9 h. 7′ après l'ingestion) : 4me *selle de purgation précédée d'un grand péristaltisme tubulaire du côlon entier*. Puis, *longue période de repos*.

6 h. 45′ (10 h. 15′ après l'ingestion) 5me *selle* de purgation liquide, précédée d'un *grand péristaltisme tubulaire colique*, (voy. fig. D1 à fig. D4) Fig. D1 : avant ce grand péristaltisme, on notait, entre 6 h. 40′ et 6 h. 43′ : 3 *anneaux propulseurs* dans l'ascendant, se succédant rapidement, pendant que l'ascendant se trouve en *hypertonie continuelle* (voir fig. D1.) Fig. D2. 6 h. 44′ (10 h. 14′ après l'ingestion) : *un anneau propulseur*, énergique dans l'ascendant II, se transforme en progressant en une *grande onde de péristaltisme tubulaire* (voy. fig. D3) qui court rapidement jusqu'au sigmoïde, le côlon entier est rétréci ad maximum et d'une *pâleur cadavérique* (voy. fig. D4).

On rencontre dans ce cas un phénomène caractéristique au séné, à savoir : le déclanchement du *réflexe défécatoire par une contraction violente du côlon proximal*, c'est-à-dire que l'expulsion de la selle a lieu au moment, où l'onde péristaltique n'a encore atteint que le côlon proximal (voy. fig. D3).

La contracture intense, post-défécatoire, persiste longtemps. — Longue période de repos.

* *La radioscopie*, faite à 7 h. 06′ montre que l'ascendant, le descendant, le sigmoïde et le rectum étaient remplis de bismuth (donc aussi de sennatine) *. Mais malgré la présence d'une quantité abondante de séné, il ne se produit pas, de longtemps, une

nouvelle évacuation. Le contact du séné avec la muqueuse rectale ne suffit donc pas pour déclancher le *réflexe de la défécation* ; il semble nécessaire à ce but que le séné provoque d'abord de *grands mouvements propulseurs coliques*, qui amènent une *réplétion exagérée du rectum*, et par suite, sa brusque *distension* (excitation barynogène). On constate le lendemain matin, que le chat avait expulsé pendant la nuit une selle abondante, contenant de la sennatine et du bismuth. Dans de nombreuses expériences radiologiques sur le chat non porteur de fenêtre, nous avons souvent vu séjourner dans le rectum le mélange bismuth-anthraquinone pendant plusieurs heures, sans qu'il ait déclanché le réflexe défécatoire. Dans l'expérience sur le chat 5, le même phénomène se répétait le lendemain :

« 10 h. 10′ (soit 25 h. 40 après l'ingestion de la sennatine) nous constatons à l'aide de la radioscopie, que le côlon ascendant, la seconde partie du descendant, le sigmoïde et le rectum sont remplis de bismuth et de sennatine. »

Malgré celà on voit, à la fenêtre, le côlon rester immobile, pendant 2 h., sauf à 11 h. 40′, où l'on note un anneau fixe et à 11 h. 46′ un anneau propulseur dans l'ascendant. A 12 h. 20′, soit 27 h. 50′ après l'ingestion, une *grande onde de péristaltisme tubulaire* avance rapidement de l'ascendant au sigmoïde, semblable à celle des fig. D2 à D4 ; elle aboutit à l'évacuation d'une selle abondante et la radioscopie montre ensuite un côlon entièrement vide. L'anthraquinone a donc amené *le réflexe de la défécation, mais indirectement, par l'intermédiaire du grand péristaltisme propulseur, qu'elle a déclanché dans le côlon.*

Inhibition de l'antipéristaltisme par la sennatine.

A l'arrivée des premières traces de sennatine au niveau du côlon, l'antipéristaltisme encore très net peu de temps auparavant, disparaît complètement pendant 48 h. environ. Le début de cette inhibition coïncide avec l'avènement du grand péristaltisme tubulaire, propulseur. Cette inhibition était dans ce cas d'autant plus frappante que l'on remarquait 10 *périodes d'antipéristaltisme* dans l'espace de 2 h., durant la 1re phase, c'est-à-dire aussi longtemps que le séné n'atteignait que l'estomac et le grêle, ce qui signifiait une exagération vis-à-vis de l'état normal.

Modification tonique et spasmodique des mouvements de l'intestin grêle par la sennatine (chat 5).

(Voy. les fig. schémat. 1 et 2 p. 127). Cette action, très nette, dans cette expérience, atteint son maximum entre 8 h. 50′ et 10 h. 50′ après l'ingestion de la sennatine, ce laps de temps coïncide à la radioscopie avec l'état de plénitude de l'iléon. A la fenêtre les anses grêles, appartenant à l'iléon, offrent une *hypérémie*, modérée, mais très nette, durant plusieurs heures. Le premier changement qui survient dans les mouvements du grêle consiste en ce que les contractions rythmiques annulaires deviennent beaucoup plus profondes qu'à l'état normal, et progressent sur une plus grande distance. Peu à peu on remarque un autre changement : les contractions persistent plus longtemps, deviennent *plus toniques* et montrent une tendance à la formation *d'images spasmodiques*. Pendant le maximum de cette modification, on n'aperçoit

plus les mouvements annulaires rythmiques. Par contre, les anses visibles offrent une série de phénomènes anormaux : d'abord d'énormes changements de tonicité surviennent périodiquement, au repos les anses sont dilatées ad maximum et d'un rouge sombre ; pendant la période active on voit apparaître ou des *contractions annulaires toniques*, semblables aux anneaux toniques du côlon, ou *des contractions tubulaires intenses*, péristaltiques et toniques, se propageant lentement sur une longueur considérable ; l'anse contractée frappe par sa pâleur extrême. Ces contractions, souvent violentes et *spasmodiques*, sont parfois accompagnées de borborygmes. Dans cette expérience la modification tonique des mouvements rythmiques du grêle est encore très nette même le lendemain (soit 24 h. à 28 h. après l'ingestion de sennatine), puis, peu à peu, elle disparaît. Il est à remarquer que cette excitation tonique du grêle ne semble pas très apte à accélérer la progression du contenu, car, après les doses modérées de sennatine tout au moins, elle est associée à de fréquentes *périodes de repos et de dilatation.* Il est donc compréhensible que dans les expériences radiologiques de MAGNUS on ne voyait pas de changement notable dans la vitesse de passage du bismuth à travers l'intestin grêle.

3. L'ACTION PERISTALTOGÈNE DE L'ÉMODINE DE BOURDAINE.

Nous avons choisi cette substance comme représentant des *aglycones végétales.* Nous entendons par aglycones, les anthraquinones libres sans liaison glycosidique. Cette émodine se rencontre dans de nombreuses drogues purgatives végétales, p. ex. dans la bourdaine, la rhubarbe, etc. où elle se trouve d'ordinaire accompagnée de son glycoside, la franguline. Sa constitution chimique a été spécialement étudiée par OESTERLE, qui indique la formule suivante :

CO

OH (cycle gauche) — OH, CH^3 (cycle droit)

CO

Emodine de la bourdaine.

Le professeur OESTERLE de Berne, a eu l'amabilité de mettre à ma disposition une émodine pure, préparée par lui-même ; je me permets de lui en exprimer toute ma reconnaissance. Cette émodine est une poudre cristalline, rougeâtre, très peu soluble dans l'eau, soluble dans les alcalis et le bicarbonate de soude en donnant une solution rouge.

A. Chat 19. Protocole du passage normal d'un repas composé de bismuth et de viande (voy. fig. A1 à A8).

(Entre * : observations radioscopiques, le reste du texte concerne l'observation à fenêtre).

11. IV. 22. Observation continue à la *fenêtre abdominale* entre 9 h. du matin et 6 h. 30 du soir. Radioscopies : à 8 h. 55, à 9 h. 45, à 11 h., 11 h. 55', à 1 h. 30', à 4 h. ½, à 6 h. 20' et le lendemain.

Mouvements du côlon.

8 h. 30'. Ingestion de 8 gr. de *carbonate de bismuth et de 40 gr. de viande*. Entre 9 h. et 11 h. *côlon* toujours au repos, 11 h. 13'. *Contraction cylindroïde tonique* du côlon entier ; le chat fait alors un effort et expulse des gaz. — 11 h. 15' (fig. A1) côlon au *repos*.

11 h. 18' (fig. A2). *Période d'ondes antipéristaltiques* rythmiques, profondes dans l'ascendant, durant 2 minutes.

* *La radioscopie* montre que la naissance des ondes antipéristaltiques ne pouvait reposer sur l'afflux de bismuth dans le côlon, puisque les premières masses opaques n'arriveront qu'à 1 h. 30 au niveau du côlon *.

11 h. 30'. Période d'ondes *antipéristaltiques* profondes au descendant I, rétrogradant sur une longueur de 3 cm. — 11 h. 35' (fig. A3). Côlon au *repos*, relâché. — 11 h. 40' (fig. A4). *Hypertonie cylindroïde* du descendant, et *période d'antipéristaltisme*, ondes profondes rythmiques rétrogradant sur une longueur de 2 cm. au descendant I. — 11 h. 45' à 12 h. Côlon au *repos*, descendant II en état d'hypertonie.

12 h. 05' (fig. A5). Deux *anneaux toniques fixes*, (ascendant II et descendant I), entre les anneaux, zone *d'ondes* antipéristaltiques profondes. — Période de repos. — 12 h. 25'. *Anneau tonique profond*, au transverse, restant sur place durant 1 minute. — Période de repos.

12 h. 40' (fig. A6). 3 *anneaux toniques rétrogrades*, simultanés, persistant durant plusieurs minutes. Le premier dans l'ascendant, le second dans le transverse, le troisième dans le descendant. Chacun migre lentement en *arrière effectuant* un trajet de 1 cm. — Puis longue période de repos. — 12 h. 55' (fig. A7). 2 *anneaux toniques fixes* le premier au transverse I, le second au descendant I, on voit passer par dessus ce dernier des ondes *antipéristaltiques* qui aboutissent vers le premier anneau. Ensuite période de repos. — 1 h. 00'. *Ondes antipéristaltiques* courtes, superficielles dans l'ascendant II, *puis contraction tonique cylindroïde* du descendant. — 1 h. 10' (fig. A8). 3 *anneaux toniques fixes*, profonds, simultanés et légère *hypertonie* du descendant.

Période d'afflux du bismuth dans le côlon (de 5 h. 5' à 9 h. 3/4 après l'ingestion) :

* *Radioscopies :* à 1 h. 30' (5 h. 5' p. e.), le cæcum commence à se remplir de masses opaques. A 4 h. ½ (soit 3 h. plus tard) les 2/3 de l'ascendant sont opaques, à 6 h. 20' ascendant et transverse I opaques à leur tour. *

Entre 2 h. et 6 h. 30 observation à la fenêtre. Nous ne mentionnerons pas les longues *périodes de repos* qui s'intercalent entre les périodes actives, ces dernières durent de 1 à 5 min. et sont uniquement formées par des *mouvements de rétention*. 2 h. 28'. *Anneau tonique fixe* au transverse. — 2 h. 29'. *Anneau tonique* rétrogradant d'1 cm. dans le transverse. 2 h. 45'. *Anneau tonique fixe*, profond, entre l'ascendant et le transverse. — 2 h. 55'. *Hypertonie* cylindroïde du descendant, avec *sillons plats, toniques* et multiples ; au transverse un *anneau tonique* profond. — 4 h. 45'. *Courtes ondes antipéristaltiques*, au milieu de l'ascendant. — 4 h. 50'. *Anneau tonique fixe*, au milieu de l'ascendant. — 5 h. 5'. *Anneau tonique* au transverse et ondulations *antipéristaltiques*, effectuant un court trajet au milieu de l'ascendant.

5 h. 10'. *Ondulations antipéristaltiques* rétrogradant sur 1 cm. au milieu de l'ascendant. — 5 h. 45'. *Anneau tonique, stable*, durant 1 min. au transverse.

5 h. 50'. *Anneau tonique*, très profond à l'extrémité inférieure de l'ascendant. — 6 h. 05'. *Deux anneaux toniques*, profonds, simultanés, le premier à la partie inférieur de l'ascendant, le second au transverse II, se maintiennent durant 1 min. — 6 h. 25' : *Anneau tonique* dans l'ascendant II et période *antipéristaltique*, au cæcum et à l'ascendant I.

6 h. 30' fin de l'observation.

* *Radioscopie* (24 h. après l'ingestion) l'ascendant I, le descendant le sigmoïde et le rectum sont remplis de bismuth. *

B. Chat 19 : Protocole de l'expérience avec l'Émodine de Bourdaine (associé au bismuth et viande).

13. IV. 1922 (fig. E1 à E35, planche VII-X).

8 h. 30'. *Ingestion* de 0.6 gr. d'émodine de bourdaine, associé à 8 gr. de bismuth et 40 gr. de viande.

Ensuite observation continue à la fenêtre de 9 h. du matin à 7 h. du soir, interrompue seulement par les *radioscopies*, qui furent faites à 9 h. 05' (35' p. c.), 9 h. 40', (1 h. 10' p. c.), 10 h. 55' (2 h. 25' p. c.), 11 h. 50' (3 h. 20' p. c.), 1 h. 05' (4 h 35' p. c.), 1 h. 25' (4 h. 55' p. c.), 3 h. 20' (6 h. 50' p. c.), 4 h. 30' (8 h. p. c.), 6 h. 25' (9 h. 55' p. c.), et 24 ½ p. c. et 34 p. c. et 50 h. 7' p. c.

a) Mouvements du côlon sous l'influence de l'Emodine de Bourdaine.

Ire journée après l'ingestion d'émodine : Predominance de la stimulation des mouvements de rétention.

Ire Phase : *Stimulation indirecte des mouvements de rétention*

par la voie du réflexe gastro-colique (de 1 h. à 3 h. après l'ingestion) durant cette phase le péristaltisme de l'estomac est perpétuellement animé. — De 8 h. 30' à 9 h. 27' côlon gonflé, longue période de *repos*. Dès maintenant *nous ne citerons* plus que *les périodes actives*. — 9 h. 27' (57' p. c.). Fig. E1 : période *d'ondes antipéristaltiques rythmiques*, profondes dans l'ascendant I.

9 h. 30' (1 h. p. c.) Fig. E2 : *période d'ondes antipéristaltiques profondes*, sur une zône plus étendue, dans l'ascendant.

9 h. 34' (1 h. 4' p. c.). Fig. E3 : *anneau tonique rétrograde* profond migrant lentement 1 cm. en arrière, dans le transverse I.

A remarquer dans les fig. E2 et E3 la connexité entre l'antipéristaltisme et l'anneau tonique, ayant un point de départ commun.

Autres périodes à anneaux toniques, fixes ou rétrogrades (durée 2-3 minutes) : à 9 h. 54' anneau fixe dans le transverse II. — 10 h. 06'. A. rétrogradant sur ½ cm. au même point. — 10 h. 35'. A. fixe, à la même place. — 10 h. 47. A. fixe, au milieu de l'ascendant.

Autres périodes d'antipéristaltisme (durée : 1 à 2 min.) : 10 h. 04'. Ondes amples, à long trajet, passent l'ascendant entier ; simultanément, anneau tonique, rétrogradant sur 1 cm. au transverse II. 10 h. 10' (1 h. 40' p. c.). Fig. E4 : zone de courtes ondes *antipéristaltiques* située du côté distal d'un *anneau tonique* dans le transverse I, en même temps un autre *anneau tonique* fixe au transverse II.

10 h. 40' (2 h. 15' p. c.). Fig. E5 : ondes antipéristaltiques, à travers tout l'ascendant avec hypertonie de l'ascendant.

IIme PHASE : *Action directe de l'émodine sur le côlon.*

Période d'afflux du bismuth-émodine dans le côlon ascendant : 11 h. 41'. Ondulations *antipéristaltiques*, faibles, au descendant II. Entre 11 h. et 12 h.. *Hypertonie cylindroïde*, continue du descendant (fig. E6). *Hyperémie* continue du côlon.

12 h. 16'. *Contraction cylindroïde*, tonique, du descendant persiste plusieurs minutes. — 12 h. 30. *Ondulations antipéristalt.* courant rapidement sur 1 ½ cm. dans le descendant. — 12 h. 37'. *Ondes antipéristalt.* de 2 cm. dans le transverse. — 12 h. 40'. *contraction cylindroïde* intense du descendant II. — 12 h. 43. *Anneau tonique stable*, profond au transverse, persistant 4 minutes. — 12 h. 55'. *Ondes antipéristalt.* moyennes, effectuent un trajet d'1 cm. au descendant I. — 12 h. 57'. *Ascendant se contracte en boule, (contraction tonique générale)*. * A la radioscopie ombres diffuses dans l'ascendant entier. *

1 h. 15' : Période *d'antipéristaltisme* : 7 ondes moyennes, dans l'ascendant effectuent un trajet d'1 cm. — 1 h. 50' : *Anneaux toniques* au descendant I. — 1 h. 56'. *Antipéristaltisme*, ondes plates sur une longueur de 1 cm. dans le descendant. — 2 h. 02'. *Antipéristaltisme semblable*, mais plus bas dans le descendant. — 2 h. 07'. *Anneau tonique fixe* à la même place que l'antipéristaltisme précédent. — 2 h. 13'. Deux *anneaux toniques, fixes*, simultanés au transverse. — 2 h. 15'. *Anneau tonique, fixe*, descendant I. — 2 h. 17'. *Anneau tonique*, profond, fixe au transverse. — 2 h. 20'. *Anneau tonique, fixe*, très profond dans le descendant I, se relâchant lentement après 4 min. — 2 h. 33'. *Contraction tonique générale* (en boule) de l'ascendant I et en même temps un *anneau tonique* profond, en av: I. — 2 h. 36'. *Antipéristaltisme*, faible trajet, 1 cm. dans le descendant I. — 2 h. 40'. *Anneau tonique, fixe*, au descendant I. — 2 h. 50 : *Anneau tonique fixe*, au transverse. — 2 h. 53'. *Antipéristaltisme*, au transverse trajet 1 cm. — 3 h.. *Antipéristaltisme*, moyen, trajet 1 cm. dans le descendant I. — 3 h. 14'. *Anneau tonique*, profond, dans le transverse. — 3 h. 40'. *Anneau tonique stable*, profond, largeur 1 cm. au transverse. — 3 h. 45'. *Anneau tonique, profond*, à tendance *rétrograde*, au descendant I ; en aval, descendant en hypertonie. — 3 h. 50'. *Anneau tonique, fixe*, profond, dure 5 min. dans le transverse ; ascendant : *Hypertonie* cylindroïde durant 10 min. — 3 h. 55'. *Anneau tonique, fixe*, très profond, au descendant I ; en amont : *ondes antipéristaltiques*, parcourant le transverse hypertonique. — 4 h. 09'. *Anneau tonique*, profond dans le descendant I, aboutit à une *contraction cylindroïde* du descendant, lequel devient pâle. — 4 h. 20'. *Contraction cylindroïde, tonique*, dans le descendant, issue d'un *anneau tonique*, profond et se propageant en avant. — 4 h. 30'. *Deux anneaux toniques, fixes, profonds*, le premier dans l'ascendant, le second dans le descendant I. — 4 h. 53'. *Ondes antipéristaltiques*, aplaties, rétrogradant sur 1 cm. dans le descendant I.

Fig. E7 : 5 h. 20' (8 h. 50' p. c.). *Un anneau tonique fixe*, profond, aux confins de l'ascendant et du transverse, 2 cm. en aval naissent des *ondes antipéristaltiques*, qui courent vers cet anneau et le dépassent. En même temps : *Une seconde zone d'antipéristaltisme* dans l'ascendant et *hypertonie cylindroïde*.

Fig. E8 : 5 h. 25' (8 h. 55' p. c.). — Période active de plusieurs minutes : a) *ondes antipéristaltiques*, très profondes dans l'ascendant cheminant vers un *anneau tonique*, fixe, situé entre l'ascendant et le cæcum lequel est *contracté en boule*. Simultanément : *un second anneau tonique*, fixe, large et profond dans le transverse. — 5 h. 30'. *Anneau tonique, fixe*, avec *zone d'antipéristaltisme distale*, dans le transverse. Ensuite longue période de *repos*, tout le côlon est relâché. — 6 h. Période active avec 2 *zônes d'antipéristaltique*. D'abord apparait une première série d'ondes dans le descendant I, puis une seconde zône d'antipéristaltisme se forme dans l'ascendant II, et ensuite les deux zônes sont en activité simultanée. Le transverse, qui les sépare, est en forte *contracture tubulaire tonique*.

Fig. E9 6 h. 04' à 6 h. 06'. *Deux anneaux toniques, fixes*, profonds, aux deux

extrémités du transverse, persistant plusieurs minutes. La place de ces anneaux correspond aux deux zônes d'antipéristaltisme précédentes.

Fig. E10 : 6 h. 12′ (9 h. 42′ p.c.). *Deux zônes d'antipéristaltisme* séparées, la première dans le transverse, la seconde dans le descendant I. Les segments, parcourus par ces ondulations rétrogrades sont en forte *hypertonie cylindroïde*, et séparés par une zône à *multiples sillons* (*anneaux toniques*, fixes, peu profonds).

* A la radioscopie, faite aussitôt après cette observation, on voit correspondre aux 3 zônes (antipéristaltiques et toniques) une discontinuité dans l'ombre colique, tandis que le reste du côlon est opaque. *

Fig. E11, 6 h. 15′. *Anneau tonique*, profond, dans le descendant I, migrant légèrement en *sens antérograde. (Anneau à propulsion faible)* — 6 h 30′ : Une *onde de péristaltisme cylindroïde* légère, chemine lentement 2 cm. en avant dans le descendant I. On la voit pousser vers le bas un bol bismuthé, translucide, visible à travers la paroi colique. — 6 h. 35. *Ondulations antipéristaltiques*, sur un trajet de 2 cm. dans le descendant I. — 7 h. (10 h. 30 après l'ingestion d'émodine), le descendant est encore en hypertonie.

(Fin de l'observation).

SECONDE JOURNÉE APRÈS L'INGESTION D'ÉMODINE DE BOURDAINE.

14. IV. 22. — STIMULATION DES MOUVEMENTS DE RÉTENTION ET DU PÉRISTALTISME PROPULSEUR DARS LE CÔLON.

Le chat n'a pas de selle, malgré la présence de l'émodine dans le côlon depuis plus de 20 h.

* *Radioscopie* à 9 h. (24 ½ h. p. c.) : estomac vide, côlon descendant et transverse pleins, descendant vide, sigmoïde et rectum remplis. *

9 h. ½ reprise de l'observation à la fenêtre : côlon au repos (voir fig. E12, 25 h. 37′ p. c.).

Fig. E13 : 10 h. 15 (25 h. 45′ p. c.). *Un anneau propulseur*, profond migre de l'ascendant au descendant I, il est associé à une petite *zône d'antipéristaltisme distale*.

10 h. 20′ à 10 h. 30′. *Repas carné*, qui détermine aussitôt un fort *péristaltisme gastrique*.

Fig. E14 : 10 h. 30 à 10 h. 32′ (26 h. p. c.). *Deux anneaux toniques profonds*, avec 2 zônes *d'antipéristaltisme* : à 10 h. 30′, un premier anneau, large, dans le milieu de l'ascendant migre très lentement ½ cm. en avant, et reste stationnaire. En aval une petite zône de courtes ondes antipéristaltisques, vient se briser contre lui, naît dans le transverse, un second anneau, large, profond, lui aussi associé en aval à une petite zône d'antipéristaltisme rythmique, il persiste plusieurs minutes. — De 10 h. 34′ à 10 h. 36′ une légère *onde de péristaltisme cylindroïde* part du second anneau et chemine tout le long du descendant qui persiste ensuite en hypertonie.

10 h. 41′. Deux anneaux toniques, l'un dans l'ascendant II, l'autre dans le descendant I. Ce dernier se transforme en une *contraction cylindroïde* modérée.

Fig. E15, 10 h. 45′ (26 h. 15′ p. c.). *Un anneau propulseur large*, mi-profond, avance lentement dans le descendant I, en 4 minutes, sur un espace de 3 cm. La fig. E15 le présente à la fin de son parcours.

Fig. E16, 10 h. 55′. Ascendant relâché, descendant en légère *hypertonie*, avec un *faible anneau tonique* en son milieu.

FIG. E 17. A FIG. E 22. — 1er CYCLE DE MOUVEMENTS COLIQUES MIXTES. TRANSITION ENTRE LES MOUVEMENTS DE RÉTENTION ET LES MOUVEMENTS PROPULSEURS.

(De 26 h. 45′ à 26 h. 50′ après l'ingestion d'émodine).

Cette période débute à 11 h. 15′ (26 h. 45′ p. c.) par une *contraction générale tonique*,

du cæcum (en boule) donnant naissance à un *anneau propulseur* (fig. E17) qui chemine lentement en avant le long de l'ascendant.

De courtes *ondes antipéristaltiques*, profondes, naissent rythmiquement en aval et viennent se briser contre. Puis à 11 h. 19', il se forme dans le transverse un second *anneau tonique*, fixe, large et profond ; associé également à une *zone distale d'antipéristaltisme*, descendant en hypertonie (fig. E19). Une minute plus tard, à 11 h. 20', cet *anneau tonique* du transverse s'étale (fig. E20) et engendre une onde de *grand péristaltisme tubulaire propulseur* (fig. E21 et E22), semblable à celles observées si souvent sous l'action du séné. Malgré sa grande force propulsive, cette onde n'améne pas de défécation.

Fig. E23 (de 11 h. 21 à 11 h. 25') : *contracture* tubulaire continue du transverse et du descendant persistant durant 6 minutes.

2me CYCLE MIXTE, SEMBLABLE (FIG. E 24 A FIG. E 27).

Il débute de nouveau par des mouvements de rétention *anneaux toniques* et *antipéristaltisme*, et se termine par un *grand péristaltisme tubulaire*. Ce cycle débute à 11 h. 30' dans l'ascendant, avec une *contraction en boule* du cæcum, qui engendre un *anneau tonique propulseur* progressant très lentement sur 1 cm., en 4 min. En aval de l'anneau une courte petite *zône d'antipéristaltisme*. — 11 h. 36. Un second *anneau tonique fixe*, entre le transverse et le descendant.

11 h. 36. *Anneau tonique* large, d'abord fixe, entre l'ascendant et le transverse, associé à une zône distale *d'antipéristaltisme*. Peu à peu cet anneau s'étend vers le bas et resserre le transverse en forme de tube, tandis que des ondulations *antipéristaltiques* parcourent ce dernier (fig. E24).

Fig. E25 : 11 h. 46'. L'activité du transverse disparait mais une nouvelle zône *d'antipéristaltisme* naît plus bas dans le descendant. Puis la région colique, qui offrait jusqu'alors surtout des *mouvements de rétention* (anneau tonique et antipéristaltisme) passe à une *activité* nettement propulsive, de la même manière qu'au cours du cycle précédent ; à 11 h. 47' naît dans le transverse un large *anneau tonique*, qui s'étale vers le bas (fig. E26) et devient le point de départ d'une grande *onde de péristaltisme tubulaire*, qui chemine lentement le long du descendant (fig. E27). Puis, durant 10 min. *contraction tonique tubulaire* du *transverse* et du descendant.

FIG. E 28 A FIG. E 35. 3me CYCLE DE MOUVEMENTS COLIQUES DANS L'ASCENDANT AVEC PRÉDOMINANCE DES MOUVEMENTS PROPULSEURS.

(De 27 h. 37' à 27 h. 40' après l'ingestion d'émodine).

Pendant toute cette période : transverse et descendant en *hypertonie cylindroïde*, les dessins E28 à E35 n'intéressent que l'ascendant. Le début s'effectue de nouveau au cæcum (à 12 h. 02), qui se contracte toniquement en boule et engendre un *anneau tonique* fixe, qui se relâche bientôt après. Puis à 12 h. 07' (fig. E28) une nouvelle contraction en boule du cæcum donne naissance à un *second anneau tonique, propulseur* cette fois, qui se meut lentement quelques cm. plus bas. Immédiatement en aval de cet anneau, marchent rythmiquement de courtes *ondulations péristaltiques, antérogrades* (fig. E29). — 12 h. 8' : Période de repos (fig. E30). — 12 h. 10' (27 h. 40 p. c.)

Fig. 31 : un nouvel *anneau tonique propulseur, court rapidement* du cæcum, à travers tout l'ascendant. Aussitôt après : *deux nouveaux anneaux propulseurs* (fig. E32) courent simultanément à travers l'ascendant, suivis de véritables *ondes péristaltiques*, rythmiques, donc antérogrades, qui cheminent tout le long de l'ascendant et se répètent durant une minute. (Passage *d'anneaux propulseurs en ondes péristaltiques rythmiques*).

Fig. 33, 12 h. 12' : *anneau tonique, fixe* entre l'ascendant et le transverse, s'élargissant en avant et en arrière, puis se relâchant. Cette même formation se répète plusieurs fois au même point. *(Anneau à pulsations rythmiques, lentes)*. 12 h. 14'. *Anneau*

propulseur entre ascendant et transverse ; progression à ½ cm. — 12 h. 14′ à 12 h. 16′. *Anneau à pulsations rythmiques, lentes*, au même point que celui de 12 h. 12′ et fig. E33, — fig. E34. 12 h. 16′. Ascendant au repos, dilaté, transverse (dont seulement une petite partie est dessinée sur le décalque) et descendant toujours en *contracture cylindroïde* continue.

Fig. E35. 12 h. 22′ (27 h. 52′ p. e.), forte *hypertonie cylindroïde* de l'ascendant, *anneau tonique fixe* entre l'ascendant et le cæcum, *plusieurs ondes antipéristaltiques* courent simultanément du transverse au cæcum.

(*Fin de l'observation à la fenêtre*).

* *Radioscopie* : 5 h. 45′ (33 h. 45′ après l'ingestion d'émodine : Le côlon entier et le rectum ont déjà reçu la masse contenant l'émodine de bourdaine. *

La première selle, après l'émodine de bourdaine a lieu 50 h. 20′ seulement après l'ingestion : La défécation est précédée d'un *péristaltisme cylindroïde* du descendant, puis sur ce action de la *presse abdominale* et l'expulsion de 2 bols fécaux mous, contenant de l'émodine ; puis longue contracture post-défécatoire.

Résumé des résultats de l'action péristaltogène colique, de l'émodine de bourdaine.

(Chat 19 : comparaison entre la journée normale et la journée de purgation.). Voir fig. A 1 à A 8 et fig. E 1 à E 35, et tableau page 69.

La dose de 0,6 gr. d'émodine de bourdaine, qui a été administrée au chat 19, n'avait que peu d'effet purgatif. La première selle n'est provoquée que 50 h. et 20′ après l'ingestion d'émodine. Elle est un peu plus molle que les selles normales de ce chat. En dépit de cet effet purgatif faible, cette expérience est particulièrement instructive, car elle permet de suivre nettement la *transition graduelle de la motricité colique normale* (de rétention) à la motricité *de purgation* (propulsive). Cet exemple facilite la compréhension de la modification brusque qui survient dans la motricité colique sous l'action du séné.

Première journée après l'ingestion d'émodine de bourdaine.

Au cours de la *première journée* après l'ingestion *d'émodine*, nous assistons à une *exagération des mouvements de rétention du côlon*, (antipéristaltisme et anneaux toniques fixes). Ces deux formes de mouvements coliques se trouvant renforcées, se prêtent particulièrement bien à l'observation.

Une *première phase d'excitation* des mouvements coliques correspond à la présence de l'émodine dans l'estomac ; cette substance *renforce le réflexe gastro-colique*. La stimulation de ces mouvements devient plus marquée après l'arrivée de l'émodine et du bismuth dans le côlon. 3 h. 20′ après l'ingestion, *(action directe sur la muqueuse colique)*. Donc l'exagération des mouvements de rétention prédomine dans cette première journée de purgation. (Voir tableau page 143). Il est vrai que les *formes propulsives* se remarquent aussi plus fréquemment qu'à l'état normal, mais elles sont lentes et peu énergiques. On ne voit encore aucune de ces grandes ondes intenses de péristaltisme tubulaire, parcourant le côlon entier, mais uniquement des contrac-

tions cylindroïdes toniques, partielles, lentes, faisant légèrement progresser le contenu, mais incapables d'évacuer un segment colique. Une demi-heure après l'arrivée de l'émodine dans le cölon, on remarque distinctement à la fenêtre une *hypérémie modérée* de cet organe, laquelle persiste longtemps et atteint son point culminant 7 heures plus tard.

SECONDE JOURNÉE APRÈS L'INGESTION D'ÉMODINE DE BOURDAINE

Prédominance d'un *péristaltisme de purgation* d'intensité modérée.

Alors qu'il s'agissait, le premier jour surtout, d'une motricité colique normale, renforcée, le second jour se distinguait par l'altération qualitative des mouvements coliques, c. a. d. par l'apparition fréquente de *mouvements* du type *propulseur intense*.

Nous avons compté ce jour dans l'espace de 2 h. 1/2, 13 périodes actives avec *mouvements propulseurs*, pour 2 périodes semblables durant 9 heures de la journée normale. Pendant le passage normal (bismuth) le côlon de ce chat ne produisait que des *anneaux toniques fixes*, ou *rétrogrades*. Il en est tout autrement durant la seconde journée de purgation, où nous assistons à une *transformation très graduelle* de ces *anneaux stationnaires* ou *rétrogrades* en *anneaux antérogrades*, plus ou moins fortement propulseurs. Le caractère propulseur des anneaux, tant au point de vue de la vitesse que de la distance, montre alors les divers stades de cette transformation par l'émodine : quelques anneaux progressent encore très lentement et sur quelques mm. seulement, d'autres, sur une longueur un peu plus grande : 1/2 cm. à 1 cm. ; 4 fois l'anneau tonique avançait assez rapidement sur une distance de 3 cm. et plus (voy. fig. E 13, E 15, E 17 à E 19). Sous l'influence de l'émodine l'effet propulseur des anneaux toniques à faible progression se constate radiologiquement dans l'avance du contenu, très distinctement. Les anneaux propulseurs apparaissent d'ailleurs dans toutes les régions du gros intenstin. Deux fois on voit un *anneau tonique*, propulseur, devenir le point de départ d'une *grande onde de péristaltisme tubulaire* (voy. fig. E 20 à E 23 et E 26 à E 27).

Le grand péristaltisme tubulaire, si fortement développé dans les expériences avec le séné, est également déclanché par l'*émodine*, durant le second jour, mais il n'atteint pas cette violence, cette longueur de propagation maximale. Ceci correspond au faible effet purgatif de l'émodine ; il fallait en effet 47 h. de contact entre la muqueuse colique et 0,6 gr. d'émodine, jusqu'à ce que l'irritation fût suffisante pour amener la défécation. La progression du contenu, causée par le péristaltisme tubulaire précédent, n'était pas assez puissante pour amener la distension rectale nécessaire au déclanchement du réflexe défécatoire. Rappelons encore que l'émodine a fait naître de *véritables ondes péristaltiques*, donc *antérogrades*, que nous n'avons jamais observées sur un côlon normal. Deux fois un cycle de mouvements de l'ascendant débutait par un anneau tonique antérograde solitaire, suivi d'une série d'ondes antérogrades rythmiques (fig. E 32 pl. X).

Absence d'inhibition de l'antipéristaltisme colique avec l'émodine de bourdaine.

Dans aucune phase de l'action de l'émodine l'antipéristaltisme n'est supprimé, pas même le second jour, alors que le péristaltisme propulseur est bien développé. Les *périodes antipéristaltiques* apparaissent au contraire encore plus fréquemment que durant le passage normal ; on note 8 dans l'espace de 2 heures 1/2, contre 11 dans l'espace de 9 h. de la journée normale. Rappelons encore une particularité intéressante : des petites zônes distales d'antipéristaltisme s'associent souvent à un anneau fortement propulseur. Ce mouvement mixte de rétention et de propulsion a pour effet une propulsion nette ; il était souvent possible de suivre à la fenêtre la progression du bol bismuthé à travers la paroi colique transparente. On peut en conclure que la stimulation simultanée des mouvements de rétention et des mouvements propulseurs n'empêche pas l'effet purgatif d'une anthraquinone. Si cette dernière provoque en même temps des mouvements propulseurs énergiques, ceux-ci l'emportent dans l'effet final et il y a accélération de progression du contenu, c. à d. purgation.

Nous résumons encore les résultats de cette expérience, dans le tableau suivant à l'aide duquel il est facile de suivre la modification graduelle qui intervient dans les mouvements coliques sous l'influence de l'émodine.

Tableau comparatif.

(Expérience Chat 19. Emodine de bourdaine).

		journée normale durant 10 heures d'observation	1re journée d'émodine durant 10 ½ heures d'observation	2me journée d'émodine durant 2 heures do'bservation
Mouvements de rétention	Périodes d'antipéristaltisme	11	16	8
	Périodes d'anneaux toniques	16	25	6
Mouvements propulseurs	Anneaux ton. propulseurs	0	0	9
	Ondes de péristaltisme tubulaire	0	1	3
	Contract. toniques cylindroïdes	2	6	1

Tableau comparatif des mouvements coliques, illustrant le passage graduel de la motricité normale de rétention à la motricité de purgation, propulsive.

1[er] *jour* après l'émodine de B. : légère augmentation des mouvements de rétention (4 périodes contre 27 périodes). — Augmentation modérée des mouvements propulseurs (7 périodes actives contre 2).

2[me] *jour* après l'émodine : temps d'observation beaucoup plus court, 2 ½ heures seulement. Mouvements de rétention toujours augmentés, mais l'augmentation des mouvements propulseurs est beaucoup plus considérable (13 périodes propulsives dans l'espace de 2 ½ heures contre 2 périodes propulsives en 10 heures pendant la journée normale).

Action de l'émodine de bourdaine sur les mouvements du grêle.

Dans cette expérience comme dans toutes les autres, l'action principale des anthraquinones porte sur le péristaltisme colique. La modification des mouvements du grêle est toujours là, mais beaucoup plus faible et visiblement *accessoire*. De 1 à 2 heures après l'ingestion de l'émodine, les mouvements de brassage du grêle deviennent très animés ; on comptait dans une anse 16-19 anneaux rythmiques par minute. Cette stimulation reposait sur le réflexe de la replétion alimentaire, qui était légèrement renforcé par l'émodine. Mais aucune modification qualitative ne survenait encore, et les *images normales de chapelets* étaient de règle. Peu à peu seulement on remarquait une modification qualitative : environ 3 heures après l'ingestion d'émodine, la profondeur des contractions et la *progression* des *anneaux* rythmiques étaient sensiblement *exagérées* et finalement les mouvements du grêle n'offraient plus qu'un faible caractère rythmique et prenaient cet *aspect semi-rythmique, semi-tonique,* parfois spasmodique, signalé si souvent. Cette altération était bien moins marquée que dans les expériences du séné ; mais n'oublions pas que la dose d'émodine n'était que faiblement purgative.

De 1/2 à 8 1/2 h. après l'ingestion d'émodine, quand la radioscopie décélait encore une réplétion partielle du grêle, on observait à la fenêtre de fréquentes ondes de *péristaltisme tubulaire du grêle,* semblables à celles du côlon. Au lieu des chapelets, la contraction forme des cordes pâles, de plusieurs cm. de long. — Le lendemain le grêle se contractait de nouveau normalement. Notons encore une légère *hypérémie* beaucoup plus faible que celle du côlon, accompagnant la stimulation péristaltogène du grêle.

4. L'ACTION PÉRISTALTOGÈNE DE L'ANTHRAPURPURINE.

Nous avons choisi l'anthrapurpurine comme représentant des *aglycones purgatifs, synthétiques.* C'est une 1, 2, 7, trioxyanthraquinone de la formule suivante :

CO OH
HO OH
CO CH

Anthrapurpurine

Elle contient deux OH en position ortho, comme l'alizarine et offre en solution alcaline une coloration semblable d'un bleu violet foncé. Elle est légèrement soluble dans l'eau. H. VIETH qui, le premier a constaté l'action purgative intense de l'anthrapurpurine chez le chat et chez l'homme, a préconisé l'emploi du diacétate d'anthrapurpurine comme purgatif en thérapeutique humaine. Mais cette substance n'a pas trouvé la faveur des cliniciens. Il est intéressant de constater que l'expérience clinique a été corroborée par l'expérimentation sur l'animal. Quoique l'anthrapurpurine liquéfie bien les selles, elle ne stimule pas au même degré le péristaltisme colique du chat fenêtré et ne peut rivaliser au point de vue de l'action péristaltogène avec les drogues anthraquinoniques naturelles.

Chat 5 : Expérience avec l'anthrapurpurine.

Protocole abrégé de l'*observation* à la fenêtre (fig. F1 à F7) :

8 h. 30 du matin. Ingestion à la sonde : 0,7 *gr. d'anthrapurpurine*, mélangée à 12 gr. de citobaryum et 50 cm^3 d'eau. — Observation continue à la fenêtre jusqu'à 5 h. 30' du soir. — Radioscopies intercalées à intervalles réguliers.

Mouvements coliques.

Entre les périodes actives, qui ont généralement une durée de 2 à 4 min. se trouvent les *périodes de repos* du côlon, que nous ne mentionnerons pas dans ce protocole ; par contre toutes les périodes actives sont citées.

Ire PHASE : ACTION INDIRECTE, PAR LES RÉFLEXES A DISTANCE.

Laps de temps entre l'ingestion et l'arrivée de l'anthrapurpurine dans le côlon, de 0 à 1 h. 10' après l'ingestion.

Résultat : stimulation modérée des mouvements de rétention :

Dans l'ascendant. — 9 h. 03'. *Ondes antipéristaltiques*, profondes, trajet 3 cm. — 9 h. 08. *Anneau tonique, rétrogradant* sur ½ cm. qui se relâche et se renouvelle plusieurs fois. — 9 h. 12'. *Anneau tonique rétrograde*, persiste durant une min., puis il s'en forme ensuite un nouveau. — 9 h. 35'. *Ondes antipéristaltiques* parcourant tout l'ascendant

IIme PHASE : ACTION DIRECTE SUR LE CÔLON.

(Du début de la réplétion colique jusqu'à la première défécation, 1 h. 10' à 2 h. 35' après l'ingestion).

Résultat : la stimulation, produite par l'arrivée de l'anthrapurpurine dans le côlon porte presque uniquement sur les *mouvements de rétention.*

9 h. 50'. *Ondes antipéristaltiques*, profondes, font un trajet de 2 cm. dans l'ascendant qui se trouve en *hypertonie* cylindroïde.

Fig. F1, 10 h. (1 h. 30' p. c.) : 2 zônes *d'antipéristaltisme* courtes et indépendantes dans l'ascendant, qui se trouve en hypertonie. En même temps : *Un anneau tonique fixe*, profond entre l'ascendant et le transverse (pas dessiné dans la fig. F1). — Fig. F1 et fig. F2 illustrent le caractère *spasmodique* et *peu propulsif* des mouvements coliques, déclanchés par l'*anthrapurpurine*. — 10 h. 03'. *Anneau tonique rétrogradant* sur ½ cm., entre le transverse et l'ascendant. — 10 h. 09'. *Anneau tonique* fixe, au milieu de l'ascendant.

Fig. F2, 10 h. 20 à 10 h. 24'. *Anneaux toniques fixes*, multiples dans le transverse et le descendant. — 10 h. 30' : *Anneau tonique* fixe au sigmoïde. — A 10 h. 51', à 10 h. 53' et à 10 h. 55'. *Un anneau tonique fixe*, au milieu de l'ascendant. — 10 h. 56' : *Un premier anneau propulseur*, progresse sur ½ cm. seulement, au milieu de l'ascendant — A 11 h. un *second anneau tonique fixe* apparaît entre l'ascendant et le transverse.

IIIme PHASE : ACMÉ DE L'ACTION PURGATICE. DÉFÉCATIONS RÉPÉTÉES.

De 2 h. 35'à 4 h. ½ après l'ingestion.

Résultats : l'antipéristaltisme n'est point inhibé ; et pourtant l'anthrapurpurine est depuis plusieurs heures déjà en *contact avec la muqueuse colique* et a amené des évacuations liquides. Les deux formes de *mouvements de rétention* (anneaux toniques et antipéristaltisme) sont même plus fréquentes que normalement. Le *péristaltisme propulseur* apparaît uniquement dans le côlon *distal* (descendant). On le voit se produire seulement 2 fois dans l'espace de 2 h., et chaque fois comme un mouvement de défécation. Si, pour le séné et pour l'anthrapurpurine, nous comparons l'*effet purgatif* (liquéfaction des selles et leur expulsion précoce) avec l'*action péristaltogène*, nous remarquons un déficit d'action péristaltogène avec l'anthrapurpurine, qui nous conduit à supposer qu'une action excito-sécrétrice intervient dans la liquéfaction des selles.

Fig. F3. 11 h. 05' (2 h. 35' après l'ingestion). *Première selle de purgation*, semi-liquide, contenant de l'anthrapurpurine. La défécation est précédée d'une contraction cylindroïde, qui intéresse surtout le descendant ; le côlon entier se rétracte vers le bassin ; sur ce, il se produit une onde de *péristaltisme tubulaire* dans le descendant ; puis le chat met en action la presse abdominale et expulse une selle.

* A la radioscopie le descendant seul se montre évacué. *

Fig. F4, 11 h. 06 à 11 h. 15'. *Contracture cylindroïde post-défécatoire* du descendant.

11 h. 40'. Un *anneau propulseur*, avance d'un ½ cm. dans l'ascendant I.

11 h. 41' à 11 h. 43'. *ondes antipéristaltiques*, profondes dans l'ascendant ; trajet : 2 cm. Elles se trouvent situées du *côté distal* d'un *anneau tonique fixe*.

Autres anneaux fixes : à 11 h. 50' dans l'ascendant. — 11 h. 59' descendant I. — 12 h. 05' à 12 h. 09' ascendant II. — 12 h. 10 à 12 h. 15 ascendant II. — 12 h. 27' descendant I.

Autres périodes d'antipéristaltisme : à 11 h. 55' ondes superficielles parcourant ½ cm., au milieu du descendant. — A 12 h. 16' ondes moyennes, courtes, descendant I. — 12 h. 18' ondes profondes, descendant I. — 12 h. 50' ondes profondes du côté distal d'un anneau tonique dans le transverse.

Fig. F5. *Période d'ondes antipéristaltiques*, profondes, en pleine phase purgative (anthrapurpurine).

Fig. F6. 12 h. 55' (4 h. 25' p. c.). *Deuxième selle de purgation*, semi-liquide, contenant de l'anthrapurpurine. L'ascendant et le transverse ne participent point au péristaltisme propulseur, qui précède la défécation. Tout autre que chez le séné l'*onde de péristaltisme tubulaire* antérograde, précédant la défécation, est *limitée aux parties distales :* elle part du milieu du descendant et se dirige vers le bas ; puis le chat met en action la presse abdominale et expulse une selle.

* La radioscopie nous montre que cette défécation aussi, n'a vidé que la *moitié distale* du côlon. *

12 h. 56' à 1 h. 25'. *Contracture cylindroïde post-défécatoire* du descendant II.

IVme PHASE : DÉCLIN DE L'ACTION PURGATIVE.

De 5 h. à 8 h. après l'ingestion :

Durant cette phase le côlon est presque continuellement *au repos*, bien qu'il soit complètement rempli de grandes quantités d'anthrapurpurine. Le lendemain le côlon

est entièrement vide, le chat, pendant la nuit a expulsé une autre selle de purgation, semi-liquide.

Notons encore les *périodes actives* observées à la fenêtre le premier jour durant la *IVme Phase* ; elles consistent uniquement en *mouvements de rétention :*

Périodes d'anneaux toniques fixes ou *rétrogrades :* à 1 h. 36′ et à 1 h. 45′ anneaux rétrogrades, au milieu de l'ascendant. — 4 h. 20′ et 4 h. 23′ : anneaux fixes au milieu du descendant. — 4 h. 27′. Deux anneaux fixes, même place. — 5 h. 05′. Anneaux fixes, même place.

Périodes d'antipéristaltisme : à 1 h. 55′ milieu de l'ascendant, ondes courtes. — 2 h. 30′ ondes à trajet de 2 cm., ascendant I. — 2 h. 55′ ondes courtes, même place.

2me *Journée après ingestion d'anthrapurpurine :*

Durant la nuit toutes les masses opaques ont été évacuées. Malgré cela il persiste une certaine *irritation post-purgative* des mouvements coliques, qui ne concerne que les *mouvements de rétention :* (anneaux toniques et antipéristaltisme). — Fig. F7, prise 26 h. 5′ après l'ingestion d'anthrapurpurine, représente une zône *d'ondes antipéristaltiques*, située dans le côlon distal, au descendant II.

Mouvements du grêle sous l'influence de l'anthrapurpurine.

Malgré cette forte dose purgative, les mouvements du grêle sont *peu altérés*. La *modification spasmo-tonique*, signalée pour le séné, ne se produit pas du tout pour l'anthrapurpurine. Ce dernier renforce seulement les mouvements de brassage normaux et augmente légèrement la longueur de propagation durant son passage à travers le grêle (de 1 h. à 2 h. 1/2 après l'ingestion).

5. ESTIMATION QUALITATIVE, COMPARATIVE DES PURGATIFS ANTHRAQUINONIQUES PAR L'OBSERVATION A LA FENÊTRE ABDOMINALE.

Les différentes substances péristaltogènes, administrées à doses nettement purgatives, ne modifient pas de la même manière le péristaltisme colique. Grâce à notre méthode de la fenêtre, il devient possible de procéder à une estimation qualitative et comparative des différents purgatifs au point de vue de leur action péristaltogène, estimation qui fournira une base plus exacte à la thérapeutique. Les expériences, faites jusqu'ici, nous conduisent à distinguer parmi les purgatifs péristaltogènes coliques, les groupes suivants :

1. *Purgatifs dont l'action péristaltogène intense détermine seule la purgation.*

a) *Purgatifs produisant des images péristaltiques presque normales, péristaltisme normal renforcé (séné, émodine).*

b) *Purgatifs produisant des images péristaltiques anormales, incoordonnées* (déformation spasmodique intense ou troubles de la coordination du péristaltisme), comme p. ex. la pilocarpine.

2. *Purgatifs à action péristaltogène relativement faible, comparée à leur effet purgatif*, comme p. ex. l'anthrapurpurine où l'action excito-sécrétrice semble intervenir dans la liquéfaction des selles.

Comparaison sur la même chat (N° 5) des images péristaltiques, produites par la sennatine et l'anthrapurpurine.

(Voy. fig. D1 à D4 et F1 à F7).

Nous avons administré dans les deux expériences (sennatine et anthrapurpurine) des doses à peu près équivalentes au point de vue de l'effet purgatif, en faisant ingérer le triple de la dose purgative minimale. Mais l'image de l'action péristaltogène, sur le côlon, diffère beaucoup dans les deux cas. La *sennatine*, représentant des drogues anthraquinoniques *naturelles*, déclanche un beau péristaltisme propulseur dans le côlon et inhibe l'antipéristaltisme. Par contre l'*anthrapurpurine*, anthraquinone *synthétique*, n'engendre qu'un faible et rare péristaltisme propulseur et exagère l'antipéristaltisme colique.

En comparant les protocoles des deux expériences sur le chat 5, il faut tenir compte du fait que la sennatine a été ingérée en mélange solide : bismuth et viande, tandis que l'anthrapurpurine fut ingérée en mélange liquide : citobaryum. Le mélange solide parcourant plus lentement l'estomac et le grêle, il va de soi que l'action péristaltogène de la sennatine sur le côlon apparaît retardée et persiste plus longtemps.

Indiquons les points essentiels sur lesquels porte la *différence* entre l'action péristaltogène de l'anthrapurpurine et de la sennatine :

1° Le contact de l'anthrapurpurine avec *l'iléon* ne déclanche pas d'anneaux propulseurs dans le côlon, par stimulation d'un réflexe à distance (iléo-colique), comme c'est le cas pour la sennatine.

2° *L'antipéristaltisme* colique se continue durant toute la journée succédant l'ingestion d'anthrapurpurine, aussi bien pendant la phase de l'acmé de l'action purgative ; il était alors même plus fréquent et plus intense que durant la journée normale. La sennatine, tout au contraire, supprime l'antipéristaltisme aussitôt qu'elle entre en contact avec la muqueuse colique et l'antipéristaltisme ne réapparaît plus de la journée.

3° *Les grandes ondes de péristaltisme tubulaire, propulseur*, ne se produisent pas d'une façon aussi typique ni aussi énergique sous l'influence de l'anthrapurpurine que sous celle de la sennatine. L'anthrapurpurine ne provoque le péristaltisme tubulaire que dans les parties distales du côlon (descendant II et plus bas). Par contre la sennatine déclanche un péristaltisme propulseur beaucoup plus étendu qui parcourt souvent le côlon entier. Comparez à ce sujet les images produites par l'anthrapurpurine (fig. F 3 et F 6) avec celle produite par la sénnatine (fig. D 1 à D 4), sur le même chat 5.

4° *La modification spasmo-tonique* du péristaltisme de *l'intestin grêle*, qui est si caractéristique pour l'action de la sennatine, fait défaut sous l'influence de l'anthrapurpurine. La stimulation produite par cette dernière substance n'altère pas le caractère rythmique des mouvements normaux du grêle.

6. COMPARAISON DES IMAGES PÉRISTALTIQUES, COLIQUES, PRODUITES PAR LA PILOCARPINE ET LE SÉNÉ SUR LE MÊME CHAT (N° 19).

a) Protocole de l'expérience avec la Pilocarpine sur le chat fenêtré N° 19, fig. G1 à G7.

Aspect du côlon avant l'injection.

De 8 3/4 h. à 10 h. 13 observation continue à la fenêtre, où l'on rencontre 2 périodes *d'antipéristaltisme*, 3 périodes *d'anneaux toniques fixes*, quelques fluctuations lentes de tonicité et surtout de *longues périodes de repos* du côlon. — Fig. G1, 10 h. 13'. Côlon au repos, relâché.

10 h. 17'. *Injection hypodermique de 5 mgr. de chlorhydrate de pilocarpine.*

10 h. 19'. Dernière période *d'ondes antipéristaltiques*, profondes dans l'ascendant, après quoi l'antipéristaltisme disparaît durant des heures.

10 h. 29'. Début de l'action de la pilocarpine : sécrétion salivaire intense. — A la fenêtre : dans l'estomac ondes péristaltiques très profondes, d'un aspect spasmodique. Côlon au repos.

10 h. 30' : *Première grande onde de péristaltisme tubulaire*, propulseur, qui parcourt tout le descendant, produisant aussi une contraction intense des fibres longitudinales du descendant, qui se raccourcit et demeure pendant 4 min. en *contracture cylindroïde*. Expulsion répétée de gaz, l'ascendant ne participe pas aux mouvements, il est fortement ballonné.

Fig. G2, 10 h. 34'. Ascendant : contraction partielle en boule. *Une onde intense de péristaltisme tubulaire*, avance rapidement du transverse le long du descendant, qui se transforme en tube mince d'une pâleur cadavérique.

Fig. G3, 10 h. 36'. *Forme de contraction bizarre*, anormale, irrégulière, de caractère *tonique* dans l'ascendant ; descendant : *contraction tonique cylindroïde*. Intestin grêle : au repos, gonflé, de couleur livide.

Fig. G4, 10 h. 37'. *Nouvelle forme de contraction anormale*, asymétrique dans l'ascendant. La contraction débute par une propagation péristaltique, puis se transforme en contracture tonique.

Fig. G5, 10 h. 38' dans l'ascendant : un *anneau tonique*, large et profond ; en aval : des *sillons* irréguliers ; cæcum contracté en boule.

Fig. G6, ascendant : le même *anneau tonique* s'étend et se propage vers le transverse, et rend l'ascendant absolument blanc.

Fig. G7. 10 h. 40'. Le même mouvement continue, devient une onde de *péristaltisme tubulaire* qui court rapidement le long du transverse et du descendant et transforme le côlon entier en un tube extrêmement étroit et pâle, puis expulsion de gaz.

De 10 h. 42' à 10 h. 55' nous constatons la formation d'une *série* de nouvelles images de *contractions bizarres et irrégulières*, qui rappellent celles des fig. G3 à G5. En outre il se produit dans le descendant plusieurs ondes de grand *péristaltisme tubulaire* propulseur, semblable à celle de la fig. G2, qui entraînent plusieurs évacuations semi-liquides contenant beaucoup de mucosités.

Résumé.

a) ANALOGIES ENTRE L'ACTION PÉRISTALTOGÈNE DE LA PILOCARPINE ET DU SÉNÉ. (VOIR FIG. G 1 A G 7 ET FIG. B 1 A B 21.

1° *L'antipéristaltisme* disparaît aussi bien sous l'influence de la pilocarpine que sous celle du séné. Ce fait paraît intéressant puisque nous savons que l'effet de la pilocarpine est identique à celui de l'excitation du vague, à savoir du système *parasympathique*.

2° La pilocarpine donne naissance à de grandes ondes de *péristaltisme tubulaire propulseur*, et à des *contractions toniques tubulaires*, semblables à celles provoquées par le séné.

b) DIFFÉRENCES ENTRE LA PILOCARPINE ET LE SÉNÉ :

Les figures péristaltiques provoquées par la pilocarpine frappent souvent par leur *aspect anormal, asymétrique et irrégulier*. On voit parfois même des *images* tout à fait bizarres. Dans la marche des contractions propulsives l'on remarque souvent une certaine *irrégularité* et un manque de *coordination*. Le séné n'a jamais suscité de semblables irrégularités dans les contractions coliques. D'autre part les contractions causées par la pilocarpine, sont souvent très violentes et revêtent un caractère *spasmodique* encore plus prononcé que sous l'action du séné. Comparez à cet effet les images de péristaltisme tubulaire du séné (fig. B 17 à B 21) avec celles de la pilocarpine. (fig. G 5 à G 7).

Il faut chercher la *cause des différences* signalées dans le fait que le *mécanisme d'action* et le *point d'attaque* des deux médicaments en question sont différents. Dans une communication récente (Société helvétique des sciences naturelles, août 1922, Berne) j'ai démontré que le *séné* (comme tous les purgatifs anthraquinoniques) a son *point d'attaque* dans la *muqueuse colique*, où il provoque une *irritation sensitive*. J'ai pu, par exemple, inhiber l'action purgative du séné, par l'anesthésie locale de la muqueuse colique à l'aide de l'anesthésine et de la cocaïne. L'incitation sensitive de la muqueuse, causée par le séné, déclanche un réflexe péristaltogène local, dont les centres se trouvent dans le plexus d'Auerbach. Le péristaltisme exagéré qui s'en suit constitue donc une sorte de réaction défensive de l'organisme. Ceci explique pourquoi le séné ne fait pas naître des formes péristaltiques *irrégulières et incoordonnées* : c'est qu'il exerce son action en activant un réflexe péristaltogène physiologique bien *coordonné*, qui engendrera toujours des mouvements harmonieux, dont la *synergie* est dirigée par le réflexe local physiologique.

Par contre, la pilocarpine, comme on sait, attaque directement *le système nerveux* moteur, *coordinateur* de la paroi intestinale (terminaisons du vague et plexus myentérique). Une ingérence aussi directe

entraînera plus facilement des *troubles de coordination* du péristaltisme, qui créent ces rythmes et ces formes irréguliers des mouvements pilocarpiniques.

Lavements purgatifs anthraquinoniques.

En administrant les anthraquinones par voie rectale, nous avons pu provoquer dans le côlon des effets péristaltogènes semblables à ceux que l'on obtient à la suite de l'ingestion : les *anneaux propulseurs*, et le *grand péristaltisme* tubulaire, propulseur, se formant alors dans toutes les régions du côlon. Les doses actives, rectales, sont un peu plus petites que les doses actives per os. Ces essais seront poursuivis.

Conclusions.

DE L'ACTION PÉRISTALTOGÈNE DES PURGATIFS ANTHRAQUINONIQUES.

1. — Grâce à la méthode de la *fenêtre abdominale, colique*, il a été possible d'observer directement et d'une façon continue le péristaltisme du côlon du chat, sur l'animal vivant, dans des conditions quasi physiologiques.

Outre le côlon, nous pouvons observer en même temps à travers cette fenêtre les mouvements de *l'estomac* et de *l'intestin grêle*. Ceci nous permet d'établir les corrélations réflexes qui existent entre l'activité motrice des différentes régions du tube digestif.

En premier lieu nous avons pu suivre l'évolution du péristaltisme dans le côlon entier. Il est aisé dès lors d'analyser les différentes *formes de mouvements coliques* dans leurs phases successives et d'en *décalquer* les images péristaltiques les plus caractéristiques.

Les chats fenêtrés survivent à l'opération en parfaite santé pendant plusieurs semaines, même des mois, ce qui assure une observation à longue échéance et permet d'effectuer plusieurs expériences de purgation comparatives sur le même animal. Avant de procéder à ces expériences, le chat fenêtré est soumis à une observation continue de 10 à 12 heures, au cours d'une journée normale.

En combinant l'observation à la fenêtre avec la *radioscopie*, on obtient une notion exacte des relations importantes qui existent dans la purgation entre le *contenu intestinal* et le *péristaltisme*.

2. — A l'état normal, le côlon de chat présente à la fenêtre *une motricité de rétention* très prononcée. Celle-ci se caractérise :

a) par les fréquentes et *longues périodes de repos*.

b) par la *prédominance* des *mouvements de rétention* (antipéristaltisme, anneaux toniques fixes ou rétrogrades).

c) par la rareté et la faiblesse des mouvements propulseurs.

Cette motricité de rétention distingue précisément le côlon de l'intestin grêle et provoque la longue *stagnation colique*, qui est indispensable à la résorption et à l'empâtement du chyme.

La motricité du côlon de chat manifeste une étroite analogie avec celle du côlon de l'homme.

3. — Les *purgatifs anthraquinoniques* que nous avons examinés, (séné, émodine de bourdaine, anthrapurpurine) modifient profondément la motricité colique, tant au point de vue qualitatif que quantitatif.

4. — Nous avons examiné tout spécialement l'action péristaltogène du *séné*, qui a été ingéré sous forme *d'infusion*, ainsi que sous forme de *sennatine* (extrait aqueux, pauvre en résines).

L'action principale du séné, ainsi que celle des autres anthraquinones, porte sur le côlon ; une action sur le grêle est toujours présente, mais elle est accessoire. Les anthraquinones sont donc surtout des *purgatifs coliques*, comme MAGNUS l'a déjà signalé. L'action péristaltogène du séné sur le côlon, est intense pendant plusieurs heures et persiste souvent encore, quoique atténuée le lendemain. Nous distinguons dans cette action 4 *phases principales* :

5. — La 1re *phase* embrasse le temps compris entre l'ingestion et l'arrivée du séné dans le côlon. Le passage du séné à travers l'estomac et le grêle provoque déjà une légère stimultation des mouvements propulseurs du côlon, surtout celle des *anneaux propulseurs*. Cette stimulation s'effectue par la voie du réflexe *gastro-colique* ou *iléo-colique*. Le séné, en contact avec la muqueuse gastrique ou celle de l'iléon, renforce donc les *réflexes* moteurs, *coordinateurs à distance*. Pendant cette phase les mouvements de rétention restent intacts, le réflexe gastrocolique est même susceptible d'activer l'antipéristaltisme colique.

6. — La 2me *phase* de l'action du séné correspond au temps qui s'écoule entre l'arrivée du séné et la première défécation ; il s'agit déjà de *l'action locale directe* du séné sur le côlon. Aprês un temps de latence de quelques minutes, le *contact du séné* avec la *muqueuse colique* déclanche de beaux mouvements propulseurs et modifie bientôt la motricité normale du côlon d'une façon frappante : Les formes propulsives énergiques des mouvements coliques prédominent de beaucoup, tandis que les mouvements de rétention décroissent de plus en plus en force et en fréquence. A la place des anneaux toniques habituels, fixes ou rétrogrades, apparaissent dès lors de nombreux *anneaux propulseurs*, (antérogrades), profonds, qui progressent rapidement sur une longue distance, anneaux que le côlon normal ne produit pas. En outre, souvent, surgissent des ondes *péristaltiques annu-*

laires, antérogrades, rythmiques, qui ne se rencontrent jamais dans le côlon normal. D'autre part, le *grand péristaltisme propulseur, tubulaire*, peut déjà se manifester fréquemment.

En dépit de ces mouvements propulseurs énergiques, qui parcourent le côlon entier, le réflexe de la défécation tarde souvent à se produire. Il apparaît généralement 1 heure après l'arrivée du séné dans le côlon. Le réflexe défécatoire semble ordinairement être déclanché lorsque le péristaltisme propulseur a poussé une quantité suffisante du contenu colique dans les parties terminales pour y produire une *distension rectale*.

7. — *La* 3me *phase de l'action du séné* correspond à *l'acmé* de l'action péristaltogène ; elle débute avec l'apparition des selles de purgation et se prolonge (durant des heures) aussi longtemps que des quantités notables de séné sont encore en contact avec la muqueuse colique. Dans cette phase les mouvements de rétention (*antipéristaltisme et anneaux toniques fixes ou rétrogrades*) sont entièrement *supprimés*. La motricité normale de rétention a complètement disparu et fait place à *une motricité exclusivement propulsive*. Les *grandes ondes de péristaltisme propulseur tubulaire* sont dès lors prédominantes ; elles apparaissent fréquemment, à intervalles assez longs, et parcourent souvent le côlon entier, amenant de temps à autre une défécation diarrhéique. Ce grand mouvement, semi-tonique, semi-rythmique, contracte le côlon d'une manière si intense, qu'il détermine une forte ischémie. Parfois une violente contraction tubulaire dans le côlon proximal provoque directement le réflexe défécatoire, avant qu'il se produise une poussée du contenu dans les parties terminales qui entraîne la distension du rectum. Dans le côlon normal ce péristaltisme propulseur tubulaire n'apparaît que très rarement (1 ou 2 fois par jour) et presque uniquement sous forme de mouvement de défécation ; il se limite alors au côlon descendant et aux parties terminales.

8. — Une dernière et 4me *phase* correspond au déclin de l'action du séné. De petites quantités de séné se trouvent encore dans le côlon. Peu à peu les défécations s'espacent de plus en plus et les périodes de repos se prolongent. Dans la phase post-purgative les anneaux propulseurs sont souvent encore augmentés, tandis que les anneaux fixes et rétrogrades sont toujours inhibés ; l'*antipéristaltisme* est supprimé, souvent même durant le second jour après l'ingestion du séné.

9. — *L'émodine* de bourdaine, aglycone naturel, possède une faible action purgative. Ingérée à dose de 0,6 gr., elle modifie lentement la motricité colique normale. Dans l'espace de 2 jours elle transforme graduellement la motricité de rétention en une motricité propulsive. Mais alors, même pendant l'acmé de son action, les mouvements de rétention ne sont point inhibés, l'antipéristaltisme est même plus prononcé que normalement. Ce qui détermine l'effet purgatif (accélé-

ration du transit colique), ce n'est pas la disparition de l'antipéristaltisme, mais bien le fait que la force des mouvements propulseurs l'emporte sur les facteurs de rétention.

10. — La liquéfaction des selles, produite par les anthraquinones naturels s'explique aisément par leur *action excito-motrice.* Une action excito-sécrétrice ne semble pas jouer de rôle, tout au moins avec des doses thérapeutiques. On sait que la résorption et l'empâtement du chyme demandent une stagnation colique de plusieurs heures au moins. Or, la stagnation normale du contenu dans le côlon étant entravée par la motricité colique modifiée, il en résulte une évacuation prématurée du chyme non empâté, c. à d. de selles diarrhéiques.

11. — Le séné et l'émodine de bourdaine provoquent une *modification spasmo-tonique* des mouvements de l'*intestin grêle* ; mais cette action est beaucoup plus faible que celle qui intéresse le côlon. Elle s'observe nettement pendant tout le parcours de l'infusion de séné à travers le grêle. Peu à peu les mouvements de brassage (images de chapelets) disparaissent. Un facteur *tonique,* même spasmodique, s'ajoute au caractère nettement rythmique des mouvements normaux et de plus en plus on voit s'accroître les mouvements propulseurs. Un *péristaltisme tubulaire* propulseur, semblable à celui que le séné déclanche aussi dans le côlon, prédomine durant l'état maximum de plénitude du grêle. L'aspect spasmodique et la lenteur de progression de ce mouvement sont frappants dans le grêle. D'autre part on voit les mêmes anses grêles tantôt en contraction intense (cordes minces et pâles) et tantôt au repos, pendant un temps assez long, considérablement dilatées et hypérémiques. L'ensemble des faits signalés explique pourquoi le séné n'accélère que peu le transit dans le grêle.

12. — Le contact des anthraquinones avec la muqueuse intestinale provoque une légère *hypérémie,* qui se prolonge pendant des heures et se remarque toujours très nettement à la fenêtre. Ce phénomène est plus prononcé dans le côlon que dans le grêle.

13. — L'observation du péristaltisme colique à la fenêtre abdominale permet une *estimation qualitative et comparative* de l'action péristaltogène des différents purgatifs, apte à fournir des renseignements utiles à la thérapeutique. Si l'on compare sur le même chat fenêtré p. ex. les images péristaltiques produites par l'*anthrapurpurine (anthraquinone synthétique)* avec celle de la *sennatine (anthraquinones naturelles)* on constate une différence notable : *a) L'anthrapurpurine* augmente l'antipéristaltisme colique, même durant l'acmé de son action purgative, la sennatine au contraire le supprime. *b) L'anthrapurpurine* ne déclanche jamais un si beau et si grand péristaltisme propulseur tubulaire que la sennatine. L'action péristaltogène de l'anthrapurpurine semble relativement faible, comparée à son effet purgatif. Il y a par conséquent lieu de supposer l'intervention d'un autre facteur purgatif (fact. excito-secréteur).

14. — Nous avons pu faire encore une autre comparaison intéressante : celle de la *pilocarpine*, excitant *neurotrope* (parasympathique) avec le séné, *irritant de la muqueuse*.

Souvent les images péristaltiques, produites par la pilocarpine, frappent par leur aspect *irrégulier et incoordonné*, qu'on ne rencontre jamais sous l'influence des anthraquinones. Cette divergence s'explique aisément si l'on tient compte de la différence du point d'attaque. La pilocarpine attaque directement le système nerveux coordinateur local de l'intestin, ce qui favorise la production des *troubles de coordination* péristaltique.

Les anthraquinones, par contre, comme mes expériences l'ont démontré, sont des agents péristaltogènes indirectes ; ces substances excitent la *muqueuse intestinale seule*, ce qui déclanche des réflexes péristaltogènes de défense bien coordonnés. La pilocarpine, comme le séné, supprime l'antipéristaltisme colique.

15. — Lorsqu'on administre au chat fenêtré les anthraquinones directement dans le côlon (par voie rectale) on observe peu de temps après une action péristaltogène sur le côlon. *L'anesthésie locale de la muqueuse colique* par la novocaïne ou l'anesthésine inhibe cette action, ce qui prouve que la muqueuse est le véritable lieu d'attaque de ces purgatifs.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

AUBOURG et LEBON, *Bull. Soc. de Radiol.* de Paris, 1911-1912.

BAYLISS et STARLING, *Journ. of Physiol.* Vol. 26, p. 107.

BERGMANN et E. LENZ, *Deutsch. Mediz. Wochenschr.*, 1911, N° 31.

G. BÖHM, *Arch. f. exp. Path. u. Pharmak.*, 1913, Vol. 72.

BORCHERS, *Beitr. z. klin. Chirurg.*, 1921, Vol. 122.

VAN BRAAM-HOUCKGEEST, *Arch. d. gesamt. Physiol.*, 1872.

BRANDL et TAPPEINER, *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol.* Vol. 26.

BRISSEMORET, Contribution à l'étude des purgatifs organiques, Paris, 1903.

CANNON, The mecanical factors of digestion. Londres, 1922 et *Americ. Journal of Physiol.*, 1902, Vol. VII ; 1911, vol. 29 ; 1912, vol. 30.

P. CARNOT et R. GLÉNARD, Compte rendu de la Soc de Biol., Paris, 1896-1897.

CASH, Proc. Royal. Soc. N° 147, 1886.

CRÉDÉ, *Munch. Med. Wochen*, 1912, N° 52.

DUBUS, Étude expérimentale de quelques réactions motrices du côlon. Lille, 1911.

ELLIOTH et BARCLAY-SMITH, *Journ. of Physiol.*, 1904. Vol. 31.

ESSLEMONT, *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1899. Vol. 43.

R. GLÉNARD, Les mouvements de l'intestin en circulation artificielle. Paris, 1913.
A. F. HERTZ, Constipation and allied intestinal disorders. Londres, 1909.
HOLZKNECHT, *Münch. Med. Wochenschr.*, 1909, N° 47.
KATSCH et BORCHERS, *Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap.*, 1913 Vol. 12.
KATSCH, *Zeitschr. f. exp. Path. u. Therap.*, 1913. Vol. 12.
LANGLEY et ANDERSON, *Journ. of Physiol.*, 1895, Vol. XVIII.
E. LENZ, *Arch. f. Verdaunngskrankh.*, 1919. Vol. 25, 26.
LENZ et LUDWIG, *Arch. f. Gynaekol.*, 1923.
MAC CALLUM, *Arch. d. Gesamt. Physiol.*, 1904. Vol. 102 et 1908, vol. 122.
H. H. MEYER, *Arch. d. exp. Path. u. Pharmak.* Vol. 28.
MEYER-BETZ et GEBHARDT, *Münch. Med. Wochensch.*, 1912. N° 33.
OESTERLE, *Arch. d. Pharmac.*, 1908. Vol. 248 et 1915 vol. 253.
RIEDER, Fortsch a. d. Geb. d. Roentgenstrahl. Vol. 18.
RUEGGER, Thèse Zurich.
SABBATTANI, *Archiv. di fisiolog.*, 1902. Vol. VI.
SCHULTZ, *Arch. d. ges. Physiol.*, 1903. Vol. 25.
G. SCHWARTZ, *Münch. Med. Wochenschr.*, 1911. N° 28.
E. STIERLIN, *Münch. Med. Woch.*, 1910. N° 27 et Ergebn. d. inn. Mediz., 1913. Vol. X.
P. TRENDELENBURG, *Arch. f. exp. Path. u. Pharmak.*, 1917. Vol 81.
TSCHIRCH, *Handbuch der Pharmokognosie.*
V. UEXKUELL, *Ergebn d. Physiol. de Asher-Spiro*, 1904, p. 4.
H. VIETH, *Münch. Med. Wochenschr.*, 1901. N° 35.
A. ZONDEK, *Arch. f. Verdgskrkh*, 1920. Vol. 27.

Explication des figures.

Pour les détails voir les protocoles d'expériences du chapitre *Purgatifs*.

Les figures de la série A, jusqu'à la Série G représentent des *calques*, relevés directement à la fenêtre abdominale, colique. Le côlon seul est dessiné ; l'ascendant est à gauche, le descendant à droite de l'observateur, comme in situ. Chez le chat, la surface du côlon au repos est entièrement lisse.

Les *flèches*, au bord des dessins indiquent d'abord la direction du péristaltisme, puis leur longueur et leur position correspondent exactement au segment colique parcouru par le mouvement en question.

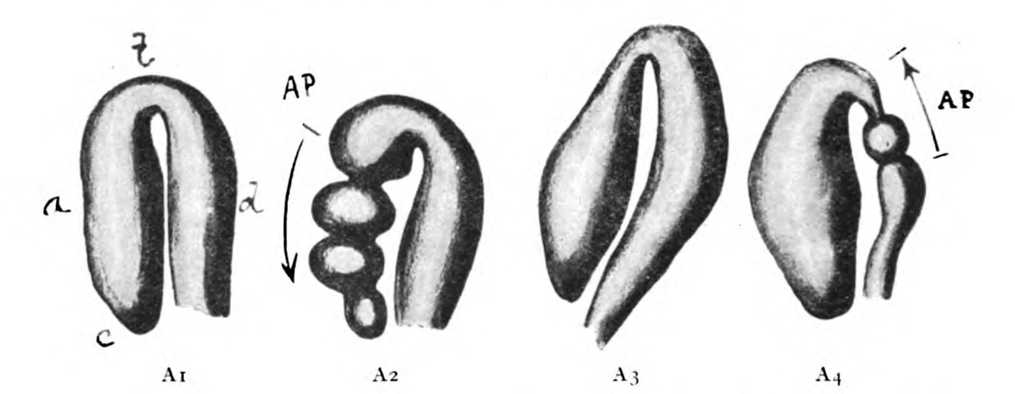
Abréviations :

C. : caecum, *a* : côlon ascendant, *t* : transverse, *d* : descendant. *Ascendant I* signifie la moitié proximale, *ascendant II* la moitié distale de cette région. Même terminologie pour le descendant, également employée dans les protocoles d'expériences. p. c. = « post caenam » = après l'ingestion.

Antip. : antipéristaltisme : série d'ondes rythmiques, rétrogrades.

Fig. A1 à A8 ; Formes de mouvements typiques du côlon normal : Mouvements de rétention.

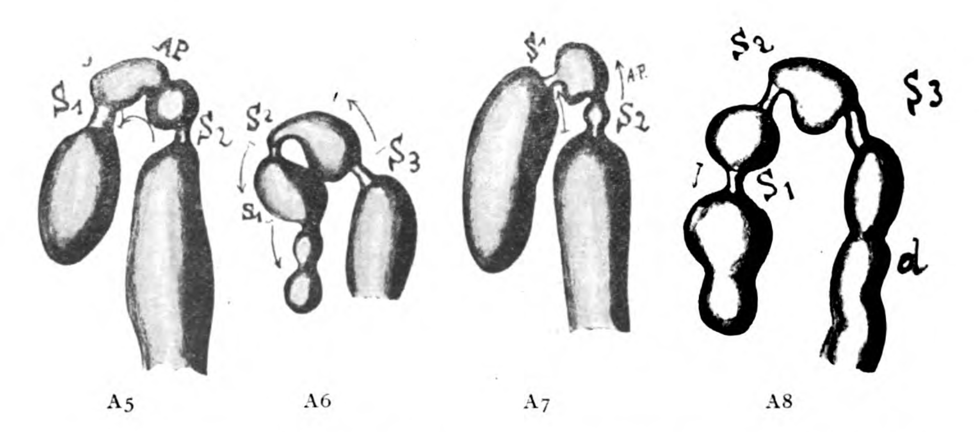
(Chat 19, journée normale, voir protocoles page 136).



A 1 : côlon au repos. c = cæcum, a = côl. ascendant, t = côl-transverse, d = côl. descendant.

A 2 : ondes antipéristaltiques rythmiques (AP), dans l'ascend. durant 2 min.

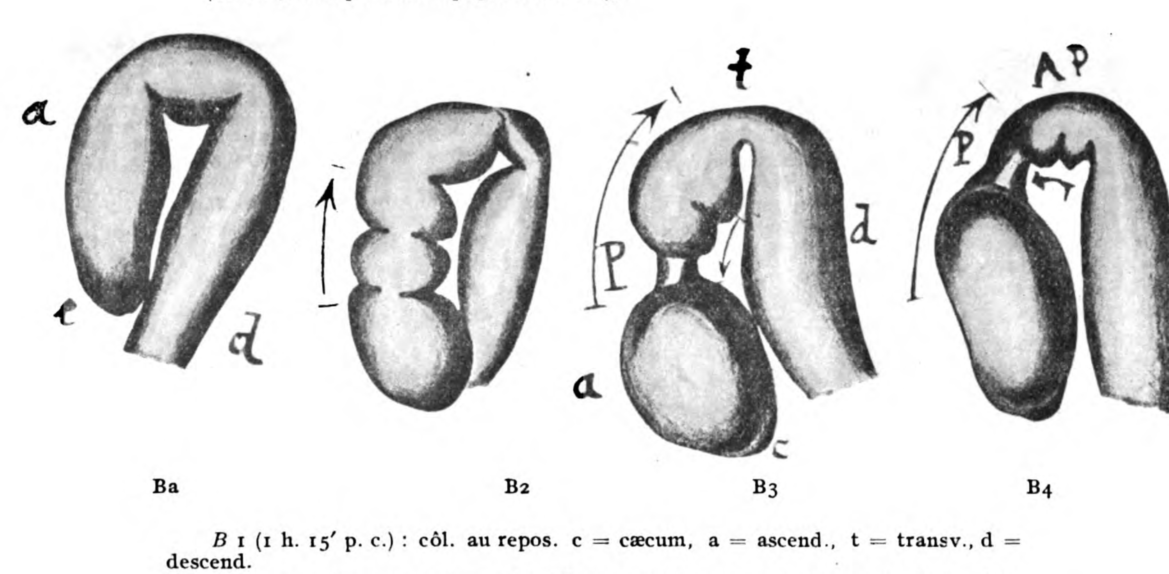
A 3 : côlon au repos, relâché. — *A* 4 : ondes antipéristaltiques (AP) au côl. descend. et hypertonie cylindroïde du descend.



A 5 : 2 anneaux toniques fixes (S1 et S2) au transverse, entre eux zône d'ondes antipéristalt. (AP) — *A* 6 : 3 anneaux toniques rétrogradant de 1cm (S1, S2 et S3), ascend. I en hypertonie cylindr. — *A* 7 : 2 anneaux toniques fixes (S1 et S2), entre eux ondes antipéristalt. (AP). — *A* 8 : 1 anneau ton. rétrograde (S1) et 2 anneaux ton. fixes (S2 et S3) et légère hypertonie cylindr. du descend. (d).

Fig. B1 à B4 : Formes de mouvements coliques typiques pour l'action péristaltogène de l'infusion de séné. — Motricité de purgation, propulsive.

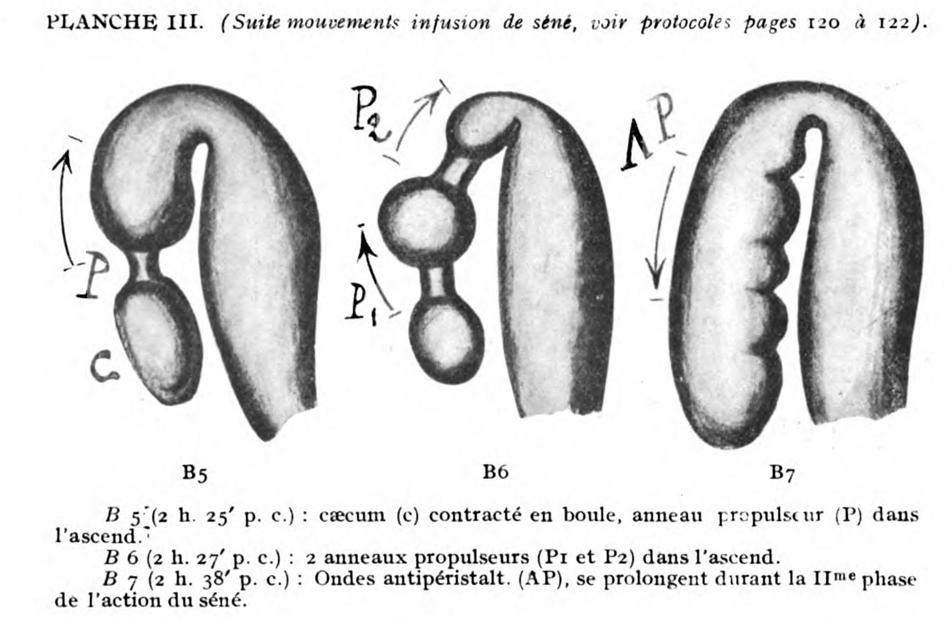
(Chat 19, voir protocoles pages 120 à 124).



B 1 (1 h. 15′ p. c.) : côl. au repos. c = cæcum, a = ascend., t = transv., d = descend.

B 2 (1 h. 35′ p. c.) : ondes péristaltiques antérogrades dans l'ascend., déclenchées par le contact du séné avec la muqueuse colique. —*B* 3 *et* *B*4 (2 h. à 2 h. 2′ p. c.) : 2 phases successives d'un même anneau propulseur (P), antérograde, avec zône distale de petites ondes antipéristalt. (AP).

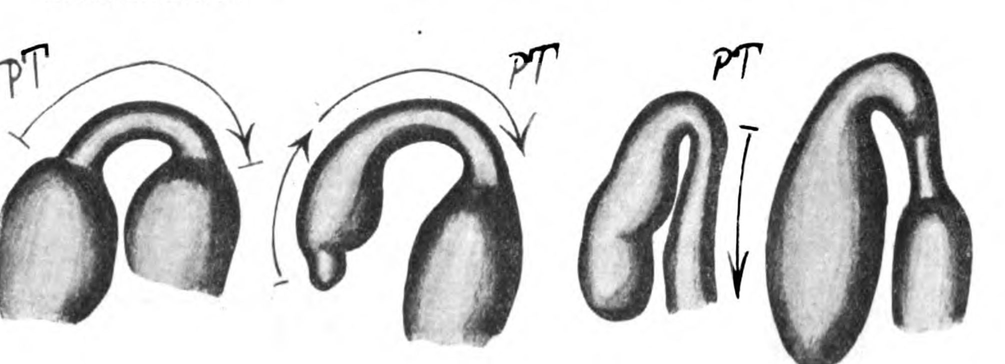
PLANCHE III. (*Suite mouvements infusion de séné, voir protocoles pages* 120 *à* 122).



B 5 (2 h. 25′ p. c.) : cæcum (c) contracté en boule, anneau propulseur (P) dans l'ascend.

B 6 (2 h. 27′ p. c.) : 2 anneaux propulseurs (P1 et P2) dans l'ascend.

B 7 (2 h. 38′ p. c.) : Ondes antipéristalt. (AP), se prolongent durant la IIme phase de l'action du séné.



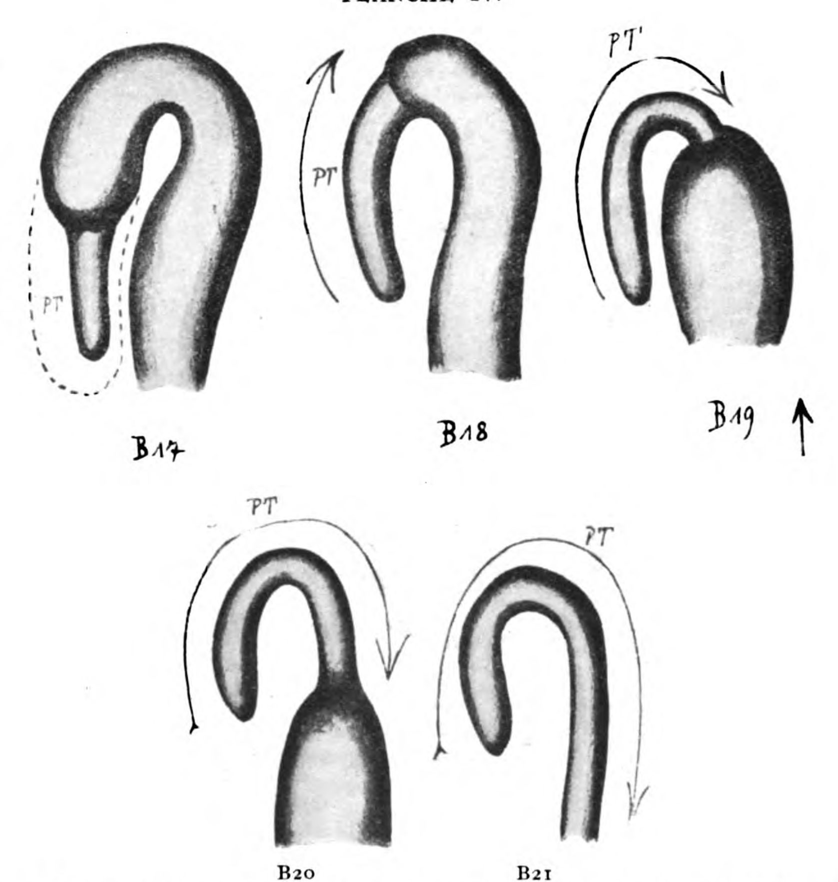
B8 ↑ 1re selle de p. B9 B10 B11

B 8 *à B* 10 (2 h. 44 à 2 h. 45 1/2′ p. c.) : 3 phases successives de la même onde de grand péristaltisme tubulaire, propulseur (PT) courant de l'ascend. au sigmoïde, entre B8 et B9 : 1re selle de purgat. (séné). — *B* 11 (2 h. 52′ p. c.) : Ascend. relâché, descend. I en contracture post-défécat.

PT1 PT2 PT2

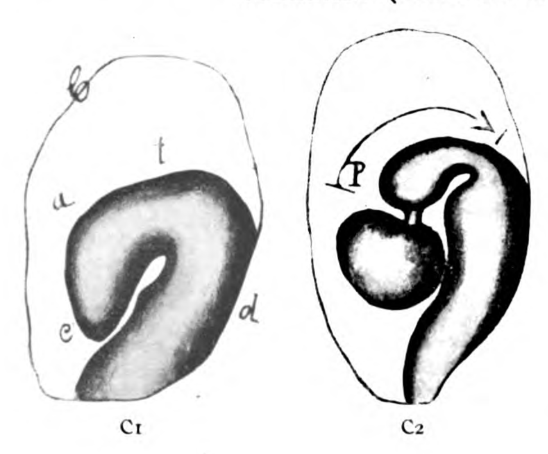
B12 B13 B14 B15 B16

B 12 (3 h. 13′ p. c.) : première onde de grand péristaltisme tubulaire, propuls. (PT.)
B 13 *et B* 14 (3 h. 13 1/2′ p. c.) : seconde onde de grand péristalt. tubul. propuls. (PT_2), courant de l'ascend. au rectum, entre B 13 et B 14 (↑) 2me selle de purgat.
B 15 (1/4 h. plus tard) : côl. encore en contracture tonique post-défécat.
B 16 (4 h. 37′ p. c.) le même côlon complètement relâché.



B 17 à *B* 21 (5 h. 4′ p. c.) : 5 phases successives de la même grande onde de péristaltisme tubulaire, propuls. (PT), courant du caecum au sigmoïde. Entre B 19 et B20 (Ÿ) 2[me] selle de purgat. (séné).

Fig. C1 à C21. Mouvements coliques sous l'action de la sennatine (extra de séné).

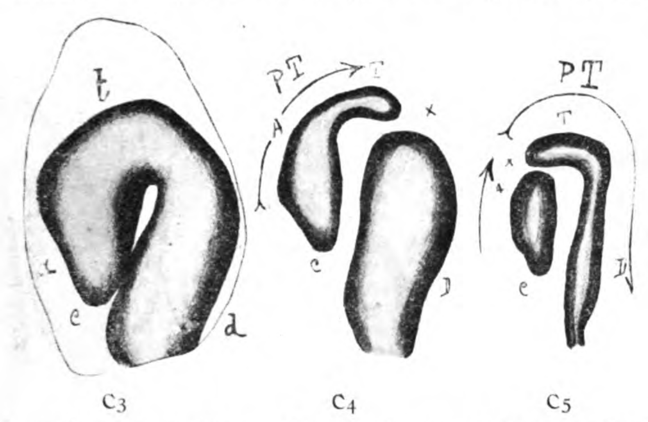


(Chat 74, voir protocoles page 128 à 130).

*C*1 (1 h. 50′.p. c.) : côlon au repos, relâché, c = cæcum, a = côl. ascend., t = transverse, d = descendant, b = bord de la fenêtre abdominale.

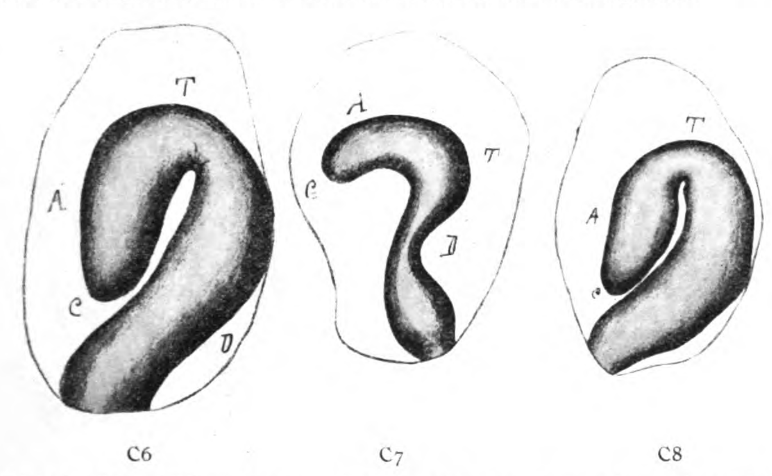
*C*2 (2 h. 05′ p. c.) : anneau propulseur (P) dans l'ascend., déclanché par le réflexe ileo-colique (séné).

PLANCHE V. (*Sennatine Chat 74, suite, voir protocoles pages* 128 à 130)



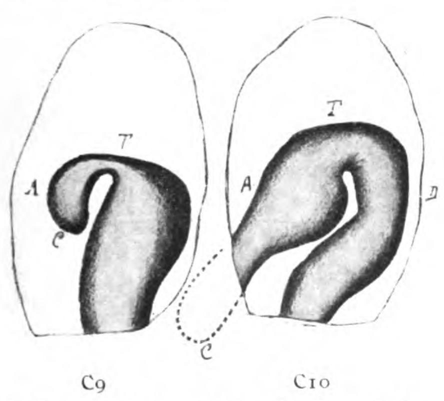
C3 C4 C5

C3 (3 h. p. c.) : côlon au repos. — *C4* (3 h. 3′ p. c.) : onde de grand péristaltisme tubul. propuls. (PT), déclanché par l'arrivé du séné dans le côlon. —*C5* (3 h. 8′ p. c.): seconde onde de grand péristaltisme tubul. courant du caecum au sigmoïde.



C6 C7 C8

C6 (3 h. 28 p. c.) Côl. au repos. — *C7* (3 h. 35′ p. c.) : contraction tonique générale du côlon entier. — *C8* : côl. au repos, relâché.

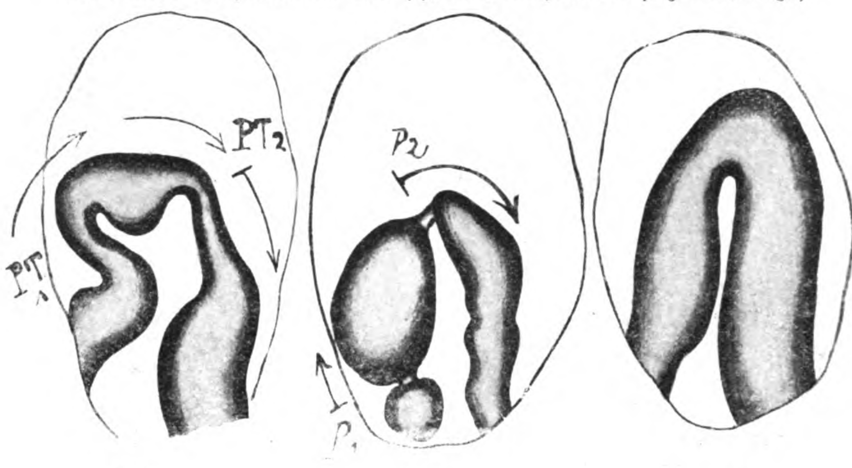


C9 C10

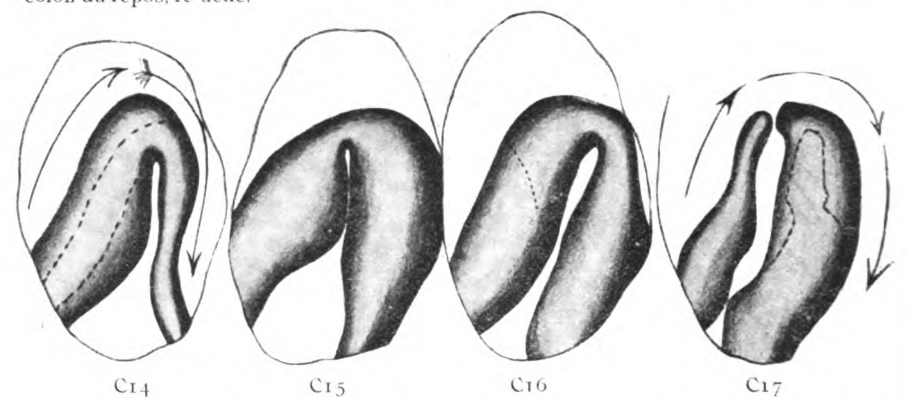
C9 3 h. 55′ p. c.) : côl. ascend. contracté en boule après la 1e défécat. de purgat (contracture post-défécat.).

C 10 (4 h. 15′ p. c.) : même côl. au repos, entièrement relâché.

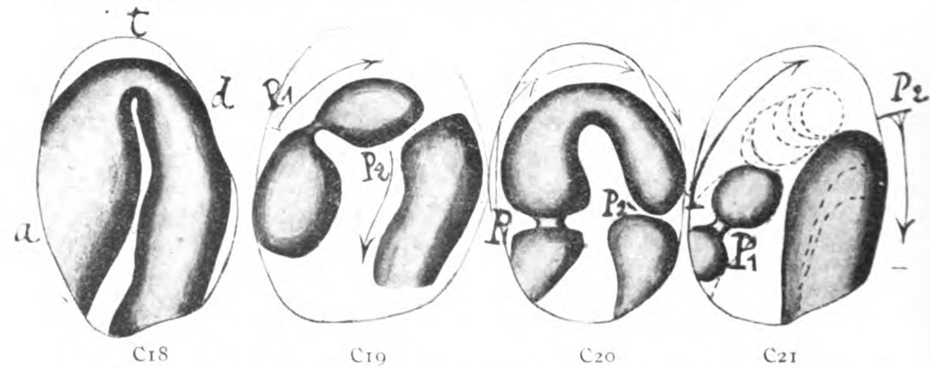
PLANCHE VI. (*Sennatine Chat 74, suite, voir protocoles pages 129 à 130*).



*C*11 (4 h. 42′ p. c.) : 2 ondes de péristaltisme tubul. propuls. séparées (PT1 et PT2)
*C*12 (4 h. 47′ p. c.) : 2 anneaux propulseurs (P1 et P2). — *C*13 (5 h. 8′ p. c.) : côlon au repos, relâché.



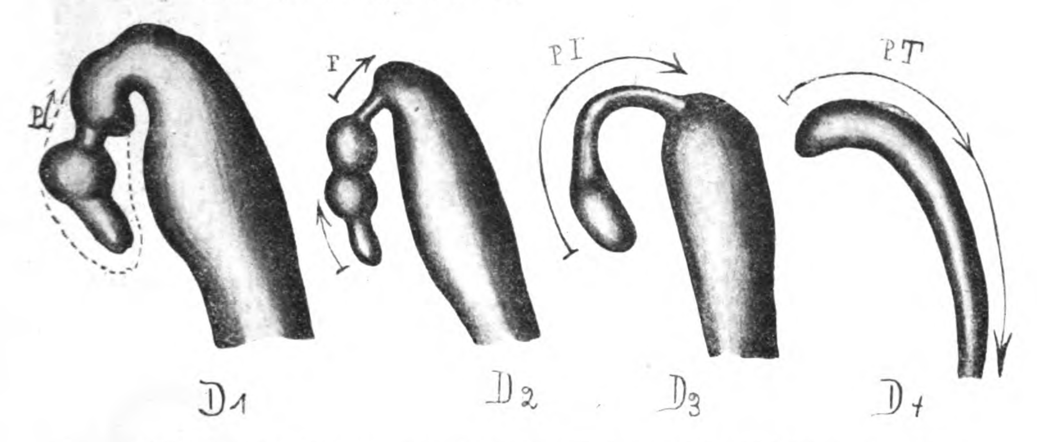
*C*14 (7 h. 4′ p. c.) : grande onde de péristaltisme tubul. propuls. courant du cæcum au sigmoïde, amène la 1re défécat. de purgat. Le pointillé marque le parcours de l'ascend. *C*15 et *C*16 : côl. au repos. — *C*17 : onde de grand péristalt. tubul. prop.



*C*18 : côl. au repos. — *C*19 (9 h. 48′ p. c.) :2 anneaux propulseurs ou antérograd. (P1 et P2).
*C*20 (9 h. 50′) : 2 autres anneaux propuls. (P1 et P2) — *C*21 (10 h. 17′) : 2 autres anneaux propulseurs (P1 et P2). Le pointillé marque les étapes successives de la progression de P1.

Fig. D1 à D4. Grand Péristaltisme cylind. propulseur du côlon, sous l'action de la sennatine. (Extr. de séné.)

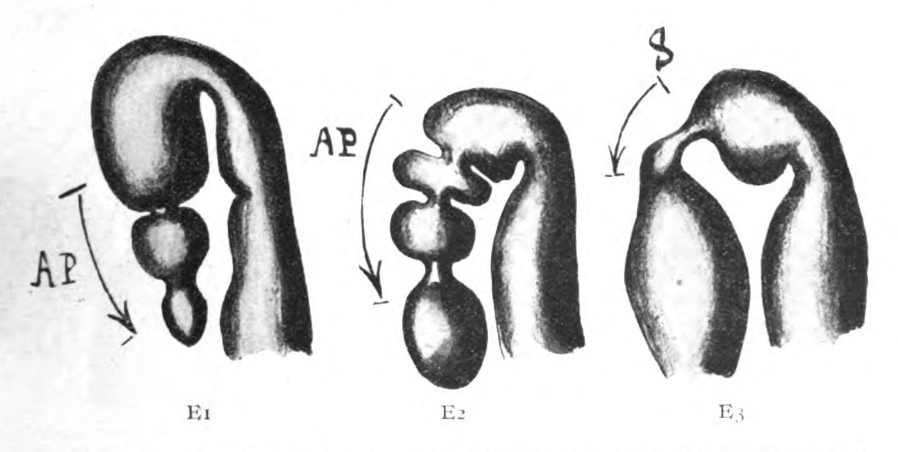
(Chat 5, voir protocoles pages 132-134).



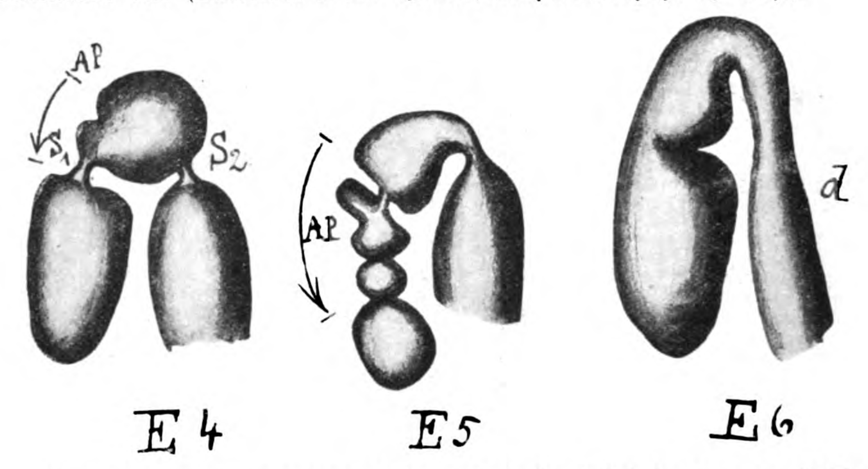
D1 à *D4* (9 h. 7′ p. c.) : 4 phases successives d'un grand péristaltisme tubulaire propulseur (PT), partant (D1) d'un anneau ton. propuls. (P) de l'ascendant.

Fig. E1 à E35 : Action péristaltogène de l'émodine de bourdaine. Passage lent et graduel de la motricité colique normale (type rétentif) à une motricité de purgation légère (type propulsif).

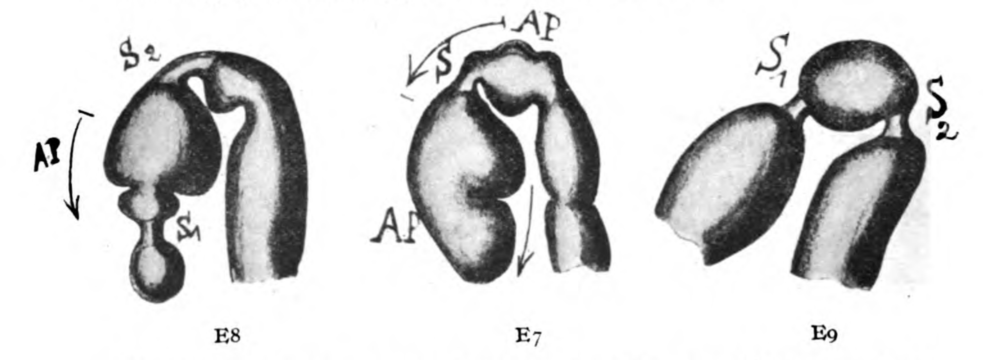
(Voir chat 19, protocoles pages 137 à 140).



E1 (57′ p. c.) et *E2* (1 h. p. c.) : formes diverses d'ondes antipéristaltiques rythmiq. (AP) dans l'ascendant. — *E3* (1 h. 4′ p. c.) : anneau tonique rétrograde (S).

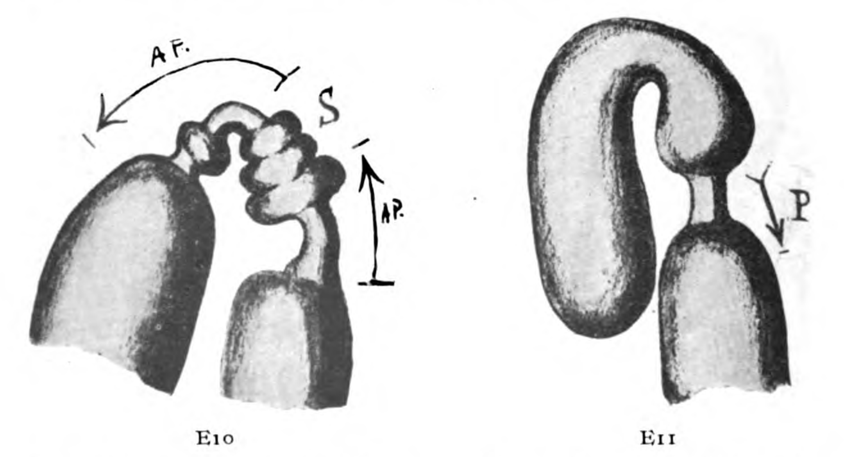


*E*4 (1 h. 40′ p.c.) : 2 anneaux toniques, fixes (S1 et S2), S1 avec zone distale d'antipéristaltisme (AP) — *E*5 (2 h. 15′ p. c.) : antipéristaltisme (AP).
*E*6 (2 h. 45′ p. c.) : repos, hypertonie cylindr. du descend. (d).



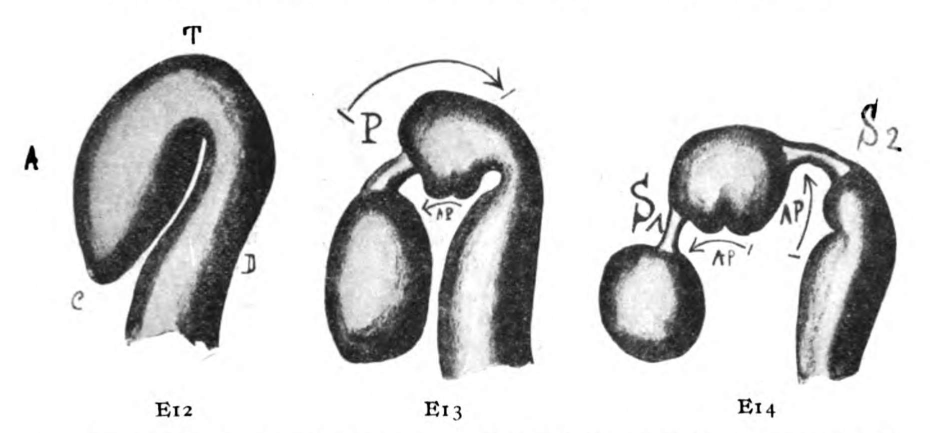
E8 E7 E9

*E*8 (8 h. 55′ p. c.) : 2 anneaux toniques fixes (S1 et S2), en aval de S1 antipéristaltisme.
*E*7 (8 h. 50′ p. c.) : 2 zones d'antipéristaltisme (AP) et 1 anneau tonique fixe (S).
*E*9 (9 h. 36′ p. c.) : 2 anneaux toniques fixes (S1 et S2) au transverse.

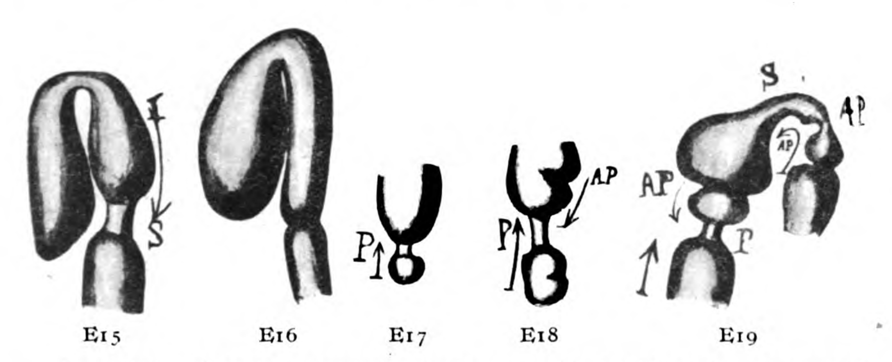


E10 E11

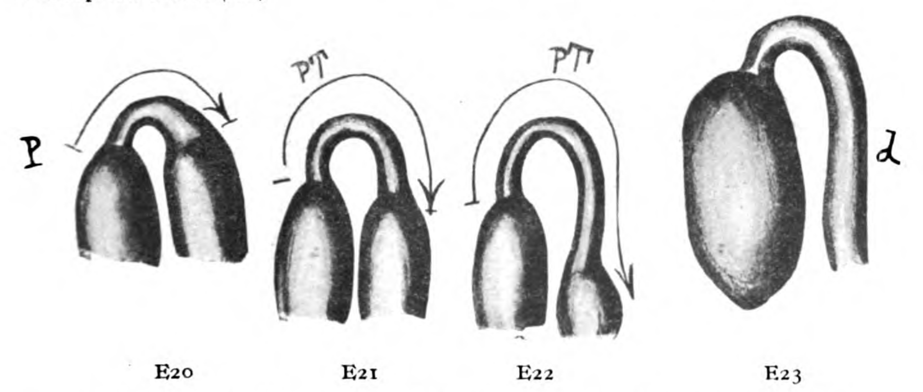
*E*10 (9 h. 42′ p. c.) : 2 zones d'antipéristaltisme (AP), entre eux de multiples anneaux toniq. (S). — *E*11 (9 h. 45′ p. c.) : 1 anneau ton. faiblement propulseur (P) du descend.



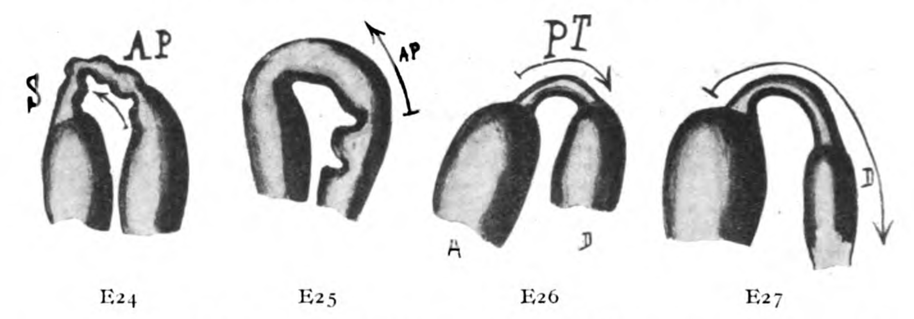
*E*12 (25 h. 37′ p. c.) : côlon au repos. — *E*13 (25 h. 45′ p. c.) : 1 anneau propulseur énergique (P), avec petite zone distale d'antipéristaltisme (AP). — *E*14 (26 h. p. c.) : 2 anneaux toniques fixes (S1 et S2) avec zônes distales d'antipéristaltisme (AP).



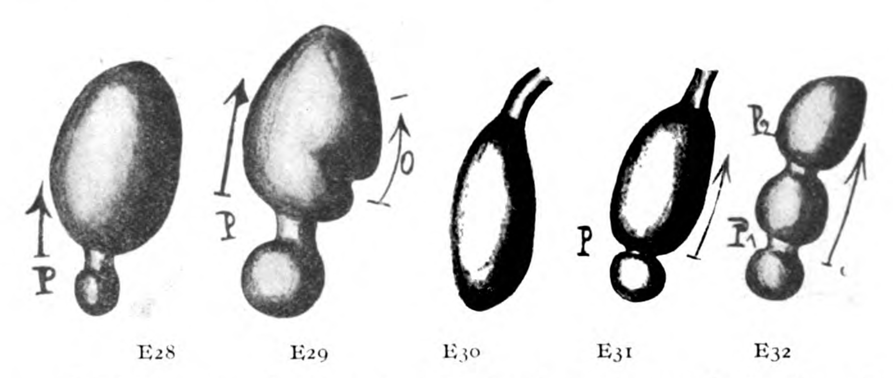
*E*15 (26 h. 15′ p. c.) : anneau propulseur (S). — *E* 16 (26 h. 25′ p. c.) : ascend. relâché, descendant en hypertonie. — *E*17 à *E*18 (26 h. 45′ p. c.) : le même anneau propuls. (P) dans l'ascend. I avec zone distale d'antipéristalt. (AP). — *E*19 (26 h. 49′ p. c.) : même anneau propuls. (P) et 1 anneau fixe (S) au transverse, et 2 zônes d'antipéristaltisme (AP).



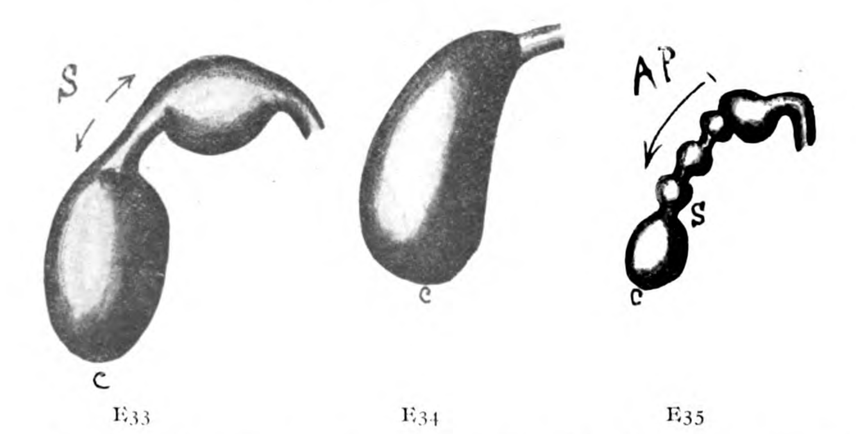
*E*20 à *E*22 (26 h. 50′ p. c.) : onde de grand péristaltisme tubulaire (PT), propuls., partant d'un anneau ton. du transverse = P, fig. E 29. — *E*23 (26 h. 55′ p. c.) : hypertonie cylindr. du descend. (d).



*E*24 (27 h. 12′ p. c.) : anneau ton. (S) avec zône distale d'antipérist. (AP) au transverse, avec hypertonie cyl. du segment actif. — *E*25 (27 h. 16′ p. c.) : antipérist. (AP) au descend. — *E*26 et *E*27 (27 h. 17′ à 20′ p. c.) : onde de peristalt. tubul. prop. (PT) du transv. au descend.



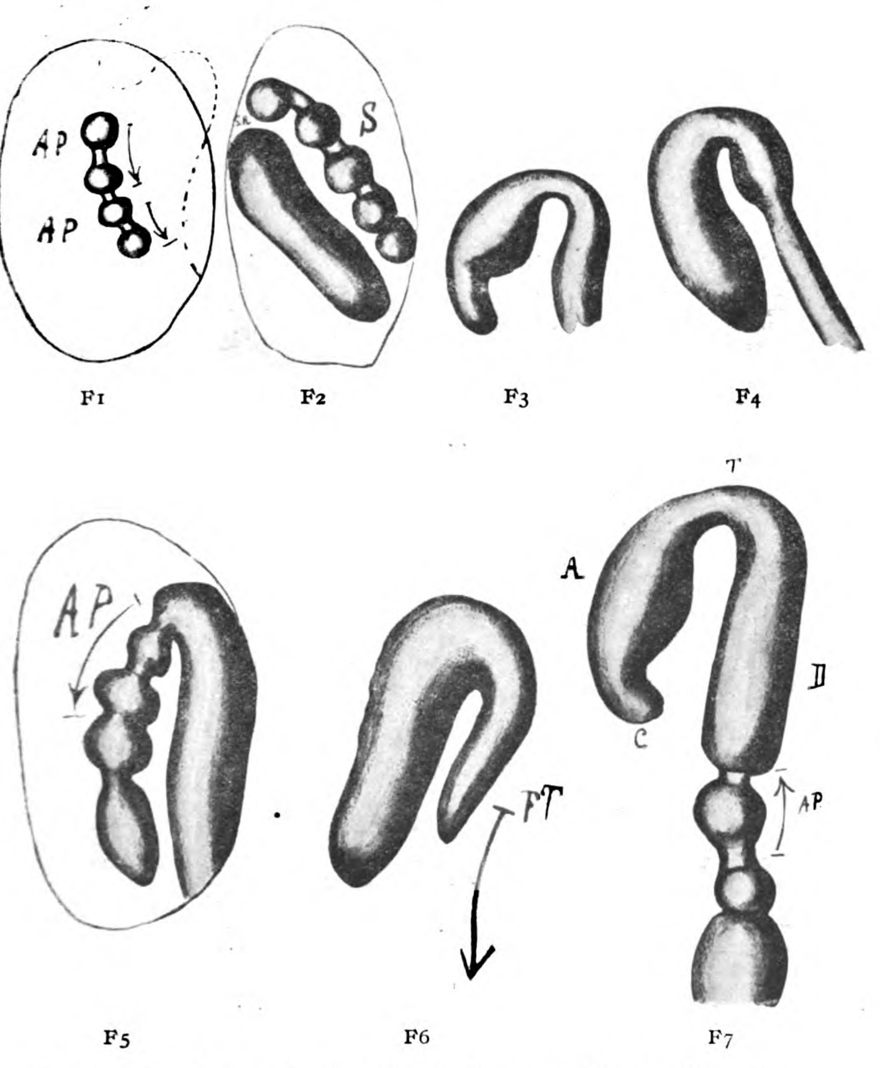
*E*28 à *E*32 (27 h. 35′ à 40′ p. c.) : cycle mixte de mouvements de rétention et de mouvements de propulsion du col. ascend.— *E*28 et *E*29 : 1 anneau propuls. (P) avec zone distale d'ondes péristalt. antérogrades (O). — *E*30 : repos. — *E*31 : 1 anneau propuls. (P). — *E*32 : 2 anneaux propuls. (P1 et P2).



*E*33 (27 h. 42′ p. c.) : anneau tonique fixe (S) au début du transverse. — *E*34 (27 h. 46′ p. c.) côl. ascend. au repos. — *E*35 : ondes antipéristalt. rythmiques (AP) de l'ascend. avec hypertonie cylindr. du segment actif, S = anneau ton. fixe.

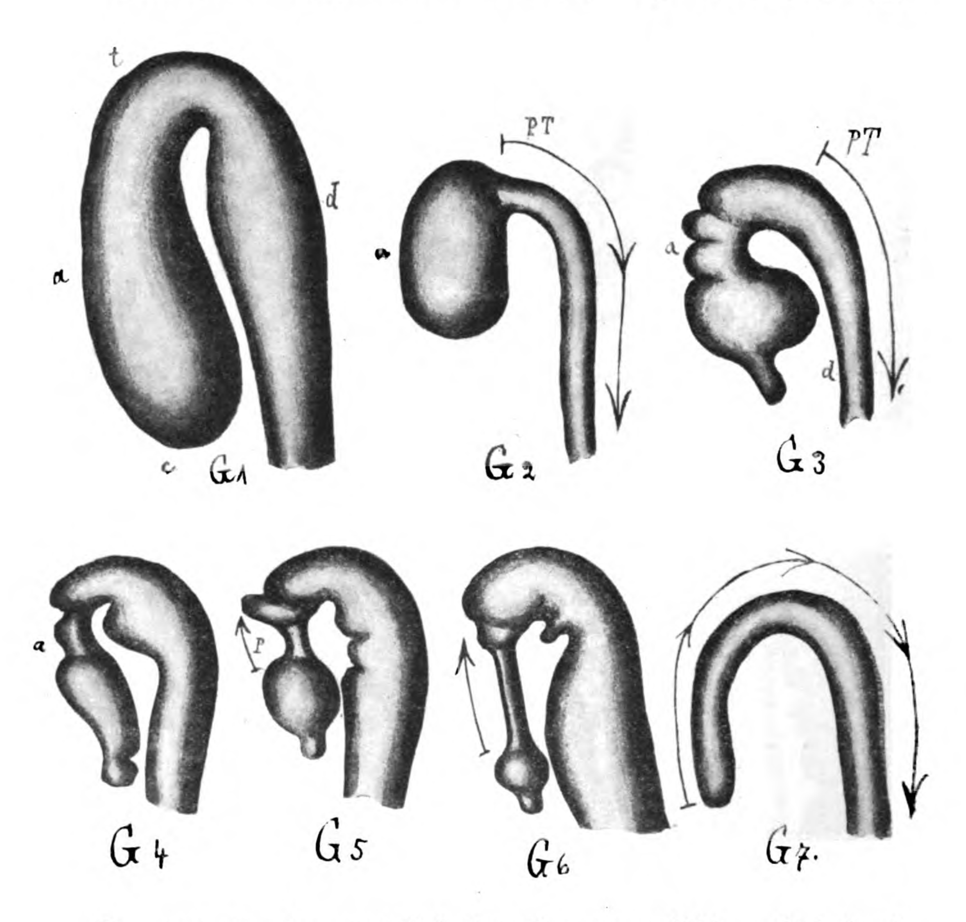
Fig. F_1 à F_7 : Formes typ. de mouvements coliques sous l'action de l'anthrapurpurine.

(Chat 5, voir protocoles pages 145 à 147).



*F*1 (1 h. 30′ p. c.) : 2 courtes zones d'antipéristaltisme (AP) dans l'ascend.
*F*2 (1 h. 50′ p. c.) : multiples anneaux ton. fixes, spasmodiques du descend.
*F*3 (2 h. 35′ p. c.) : contraction colique pendant la 1re défécat. de purgat.
*F*4 (2 h. 41′ p. c.) : contracture post-défécat., cylindr., du descend. *F*5 (4 h. 6′-10′ p. c.) antipéristaltisme (AP) de l'ascend. — *F*6 (4 h. 25′ p. c.) : périst. tubul. propuls. (P.T.) du côl. distal pendant la 2me défécat. — *F*7 (26 h. 5′ p. c.) : antipéristalt. (AP.) au côl. distal.

Fig. G1 à G7 : Formes de mouvements coliques, provoquées par une injection de pilocarpine (formes asymétriques, mal coordonnées comparées avec celles produites pàr le séné sur le même chat 19 (planche II et III.) (Voir protocoles page 149).



G1 : aspect du colon avant l'injection, col. au repos, relâché. — *G2* (17' après l'inject.) : ascendant contracté en boule (a). Onde de péristaltisme tubulaire (PT) courant du transverse au sigmoïde. — *G3* (19' après l'inject.) : contraction tonique asymétrique et incoordonnée de l'ascend. (a) et une onde de peristalt. tubul. (PT) le long du descendant (d). — *G4* (20' après l'inj.) : contraction tonique irrégulière de l'ascendant (a). — *G5* (21' après l'inject.) : anneau ton. propulseur (P) dans l'ascend. se propage vers le bas *(G6)* et devient une onde de péristaltisme tubulaire propuls. *(G7)*, qui court rapidement jusqu'au sigmoïde et transforme le colon entier en un tube mince, très pâle, (voir pour détails protocole page 149).

idremie di alto grado i muscoli sono i tessuti piu fortemente idrorecettivi, p 69. — H. Busquet, Origine mécanique de l'action tonicardiaque de l'or colloïdal, (3 fig.), p. 75. — A. Richaud, Etude pharmacothérapique sur le bromhydrate de cicutine, (3 fig.), p. 81. — G. Tate et A.-J Clark, The action of potassium and calcium upon the isolated uterus, (8 fig.), p. 103. — W. Burridge, Experiments with cocaïne, (8 fig.), p 115. — C. Heymans et Et. Maigre, Action hyperthermisante du bleu de méthylène, p. 129 — Pio Marfori, E l'adrenalina un ormone? p. 137. — Mario Garino, Sulla formazione nell'organismo di composti della serie cloroformica per decomposizione di sostanze della forma CX_3 - CO - CO - NH - CO - NH_2, p. 151. — Luigi Tocco, Sull'avvelenamento per Carnila gummifera. Nota II. — Ricerche farmacologiche sul principio attivo della Carlina gummifera (Atractylato di K), p. 171. — Lamberto Corridi, Intorno ad un nuovo composto della esametilentetramina con l'acido solfosalicilico, p. 187. — A. Van den Eeckhout, Contribution expérimentale au sujet des effets de l'arsenic sur la croissance et le développement des os, (6 fig.), p. 197. — J. Maisin, Les Bactériophages, p. 215. — M. A. Mancini e G. Guidi, Studio sperimentale sull' avvelenamento da nitrobenzolo, (9 fig.), p. 247. — David I. Macht, Pharmacological examination of isopropyl alcohol, p. 285. — Luigi Tocco, Sull' avvelenamento per Carlin-gummifera — Nota III. Richerche farmacologiche sul Carlinato de potassio p 291. — A Benedicenti e S. Rebello-Alves, Sulla cataforesi elettrica delle metallo-albumine ottenute per trattamento con polveri metalliche, p. 297. — Alberto Garello, Contributo alla tossicollogia e farmacologia dei fiori della Sophora japonica, (2 fig.), p. 317 — Miguel Ozorio de Almeida, Sur la section physologique des nerfs par la novocaïne, p. 329. — Riccardo e Angelina Leir, Lesione disseminate del sistema nervoso nell, avvelenamento per una grassa non satura, p 341. — Louis Boyenval, Les phénomènes d'avitaminose sont-ils modifiés par l'administration d'histamine chez le rat blanc? (3 fig). p. 359. — W. Koskowski, L'action antinévritique de l'histamine chez les pigeons nourris au riz poli, (2 grav.), p. 367. — Pietro-Maria Niccolini, Contributo allo studio farmacologico dell' emetina (14 fig.), p 375. — Silvio Rebello, Le contrôle de la "réaction actuelle" des tissus animaux par les fils-indicateurs. Une méthode pour le diagnostic de la mort. p. 395. — S. Katzenelbogen, Recherches expérimentales sur l'action de l'arsylène, p. 407. Luigi Tocco, Sull avvelenamento per Carlina gummifera. — Nota IV. Ricerche chimiche e farmacologiche sopra alcuni sali e sui produtti di scissione dell' acido atractylico e loro azione in rapporto alla costituzione chimica, p. 421. — G. Coronedi, Nécrologie de Riccardo Luzzato, p. 441. — J. F. Heymans et C Heymans, Hyperthermie et augmentations du volume respiratoire et de l'élimination de l'anhydride carbonique par le bleu de méthylène, (11 fig.), p. 443.

1923. Vol. XXVII. — Arthur Van Dessel, Répartition du chloroforme dans le sang, p 1. — Edgard Zunz et Alexis Delcorde, Recherches sur l'action de la codéine sur la digestion de la viande chez le chien, (2 fig.), p. 23 — H. Ritz, Les alcoylarsinates dans la trypanosomiase experimentale, p. 67. — R. Bruynoghe et R. Appelmans, La neutralisation des bactériophages, p. 81. — R. Appelmans, Au sujet de la valeur thérapeutique des bactériophages, p 85. — B Wiki, Recherches pharmacodynamiques sur les somnifères de la série barbiturique, (3 fig.), p. 117. — David I. Macht, A pharmacological examination of benzaldehyde and mandelic acid, (9 fig.), p 163. — David I. Macht, A contribution to the chemical-pharmacodynamic relationships of atropin and homatropin, (24 fig), p. 175. — V. E Henderson, On the action of atropine on intestine and urinary bladder, (2 fig.), p. 205. — Antonin Clerc et Pierre Noël Descamps, La quinine et la quinidine. Leur action comparée sur le cœur de chien *in situ*, (6 fig.), p. 213. — Chauncey D Leake et Alfred E. Koehler, Blood reaction under morphine, (2 fig.), p 221. — W Burridge, Experiments with morphine, (7 fig), p 231. — W. Burridge, Note on the alcohol problem, (1 fig.), p. 239. — W. Burridge, Observations on antagonisms of excitability, (6 fig.), p. 243. — C. Heymans, Le bleu de méthylène, antagoniste des excitants parasympatiques, (7 fig.), p. 257. — Vittorio Suzanna, Azione della coffeina sulla frequenza delle pulsazioni cardiache, (5 fig.), p 265. — Marcel le Fèvre de Arric, De l'action des colloïdes métalliques sur la toxine diphtérique, la staphylotoxine et la staphylolysine, (4 fig.), p. 277 — J. F. Heymans et C. Heymans. Hyperdéperdition calorique pendant l'hyperthermie par le bleu de méthylène, (6 fig.) p. 319. — George B. Roth, Studies on the Autonomic System. I. The Antagonism of the Stimulant Action of Barium Chloride on the Excised Surviving Small Intestine of the Frog (Rana Pipiens) by means of Epinephrin, Pilocarpin and Atropin (6 fig.) p 333. — W. Burridge, Cardiac spasm and the spasm of anaphylactic shock, a paralell, (3 fig), p 347. — W. Burridge, Experiments on the mode of action of Aconite, (9 fig.), p. 353. — Luigi Tocco, Contributo sperimentale allo studio dei corpi filanti, p. 363. — E. Bardier & A. Stillmunkès, La Syncope Andrénalino-chloroformique, (11 fig.), p. 375. — Luigi Tocco, Modificazioni strutturali determinate dai cardiocinetici sugli elementi delle miofibrille, (18 fig.), p. 415 — E Rothlin, Recherches expérimentales sur l'Ergotamine, alcaloïde spécifique de l'Ergot de Seigle, (24 fig) p. 459. — J. G. Brody and Torald Sollmann, The effect et Quinidin and other Cinchona Alkaloide on Striped Muscle, (9 fig.), p. 481.

Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. XXVIII, fasc. I-II.

Les Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie

paraissent par fascicules, avec planches et figures intercalées dans le texte, au fur et à mesure que les travaux parvenus à la rédaction le permettent.

Six fascicules forment un volume d'environ 500 pages.

Prix du volume XXVIII : **35** francs pour la Belgique, **60** francs pour l'étranger.

Les auteurs reçoivent 50 tirés à part.

On est prié d'adresser tout ce qui concerne la rédaction à E GLEY, Paris. rue Monsieur le Prince, 14, ou à J. F. HEYMANS, Gand (Belgique), boulevard de Kerchove, 49

MAISON D'ÉDITION I VANDERPOORTEN, RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.

ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris et J.-F. HEYMANS, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

VOLUME XXVIII, FASCICULE III-IV

BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR.
58, RUE COUDENBERG

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON

1923

Table des matières des volumes antérieurs.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN. — DIRECTEUR : PROF. BRUYNOGHE.

La recherche des Bactériophages dans la nature

par

J. WAGEMANS.

La recherche du Bactériophage dans les divers milieux extérieurs n'a été faite systématiquement, croyons-nous, que par deux auteurs ; à savoir d'HÉRELLE (1) et DUMAS (2). Le premier l'a isolé des déjections humaines et des déjections de plusieurs espèces animales. Tant chez l'individu malade, où l'organisme lutte avec supériorité contre l'infection, que chez l'individu sain, le bactériophage peut être décelé. De même chez les animaux, et d'HERELLE examine plus attentivement les déjections du cheval et de la poule, il est possible d'en isoler d'après lui. Aussi en conclut-il que le Bactériophage est l'hôte normal de l'être vivant.

DUMAS (2) a ensuite recherché sa présence, outre dans les déjections, dans la terre végétale, dans l'eau de ville, l'eau de conduite, l'eau de la Seine ; et dans ces divers milieux le Bactériophage a pu être mis en évidence. Cet auteur en conclut, que ce ne sont pas seulement les selles de dysentériques qui en renferment, comme l'avait signalé d'HÉRELLE, mais qu'en vérité il est très répandu dans la nature.

D'autres auteurs, tels HAUDUROY, LISBONNE et CARRÈRE signalent en passant, au cours de leurs expérimentations, l'origine de leurs Bactériophages. Ils confirment en somme les résultats de d'HÉRELLE et DUMAS.

Signalons également la communication de BACHMANN et AQUINO (3). Ces deux auteurs ont recherché et retrouvé du principe lytique, dans la pancréatine, dans le venin de *Lachesis alternatus*, et dans la bile.

Nous avons alors repris cette question, dans le but de nous faire une idée de la répartition du Bactériophage dans les milieux extérieurs.

---

(1) D'HÉRELLE. *Le Bactériophage*. MASSON 1921.
(2) DUMAS. *C. R. de Soc. de Biol.*, t. LXXXIII, p. 1314, 1920.
(3) BACHMANN et AQUINO. *C.R. de Soc. de Biol.*, p. 1108, 1922.

Nous diviserons ces recherches en 2 chapitres dans lesquels nous étudierons successivement :

1) L'Habitat du Bactériophage. Ce chapitre comprend :
   a) La recherche du Bactériophage dans le milieu humain et animal, l'eau et le sol.
   b) Quelques remarques au sujet de certaines irrégularités observées.
2) La pluralité des Bactériophages, démontrée à savoir : par la résistance des Bactériophages à la température, et l'exposé de quelques caractères biologiques.

CHAPITRE I.

L'habitat du Bactériophage.

a. La recherche du Bactériophage dans divers milieux.

I. — *Technique.*

Avant toute expérimentation, il importe d'adopter une technique d'isolement, en même temps simple et de bon rendement.

Voici en quelques mots l'exposé de cette technique :

1. Prélèvement :
   a) Déjections. Nous prélevons avec une pince stérilisée, gros comme une noisette de substance fécale, que nous ensemençons dans un vase d'Erlenmeyer contenant 30 à 40 cc. de bouillon de pH = 7.
   b) Eau. Celle-ci est prélevée dans des flacons stérilisés, dans des conditions de prélèvement analogues à celles requises pour une analyse bactériologique ordinaire. Nous ensemençons 5 cc de cette eau dans 40 cc de bouillon.
   c) Terre. Nous agissons avec les mêmes précautions dans la prise des échantillons de terre que nous ensemençons à la dose de 1 à 2 grammes.
2. Filtration. Le vase d'Erlenmeyer est ensuite porté à l'étuve à 37°, durant 24 heures. Après ce laps de temps, le produit est filtré sur Bougie Berkefeld, et récolté dans un tube stérile, plongeant dans un grand récipient dans lequel nous avons fait le vide. Une dizaine de cc passent ainsi en l'espace de quelques minutes.
3. Ensemencement. De ce filtrat, nous prélevons alors X gouttes pour ensemencer chaque souche que nous voulons examiner. Nous utilisons comme tubes contrôles les souches microbiennes non additionnées de filtrat, ainsi qu'un tube de bouillon additionné uniquement de filtrat pour en contrôler la stérilité ; car

cela va sans dire, toutes ces manipulations doivent se faire en observant l'asepsie la plus rigoureuse.

Quant aux microbes examinés, nous opérons toujours avec 3 groupes distincts.

1. Le groupe dysentérique comprenant B. Hiss, B. Shiga, et B. Flexner.
2. Le groupe Coli représenté par B. Hérelle et B. Coli.
3. Le groupe Typhus-Paratyphus dans lequel nous utilisons le B. Typhus, et quelques Paratyphus B, notamment B. Voldagsen. B. Enteri: idis.

Parfois nous expérimentons l'action lytique sur d'autres espèces microbiennes ne rentrant pas dans ces groupes.

A. Le bactériophage chez l'Homme.

Nos essais ont porté non seulement sur les déjections, mais également sur les principales excrétions et sécrétions humaines, la salive, les expectorations, l'urine.

Le tableau I montre le résultat de ces recherches :

TABLEAU I.

		Groupe dysentérique		Groupe Coli		Groupe Typhus	
		B. Hiss	B. Shiga	B. Coli	B. Hérelle	B. Voldagsen	B. Typhus
Urine. Echantil.	1.	—	—	O	—	—	—
	2.	—	—	O	—	—	—
	3.	—	—	O	—	—	—
	4.	++	++	O	—	—	O
	5.	O	—	—	—	—	—
	6.	—	—	—	—	—	—
Salive Ech.	1.	—	—	⊥*	—	++	++
	2.	O	?	—	—	?	—
Expector[ns] Ech.	1.	O	?	—	—	—	—
	2.	O	—	—	—	—	—
Selles Ech.	1.	—	—	O	—	—	—
	2.	—	—	O	—	—	—
	3.	O	—	—	—	—	⊥*

Le signe +++ indique la présence d'un Bactériophage extrêmement virulent.

Le signe ++ un Bactériophage très virulent.

Le signe + un Bactériophage de virulence moyenne.

Le signe ⊥ un Bactériophage très faible dans ses manifestations.

Tous ces signes représentent le résultat obtenu après 24 h. de développement.

L'astérisque * derrière un signe signifie qu'il a fallu un grand nombre de repiquages pour donner au Bactériophage visé la virulence indiquée.

Le signe — signifie l'absence de principe lytique.

Par le signe o nous indiquons que nous n'avons pas fait d'expérimentation avec la souche correspondante.

Provenance de ces produits :

Les échantilllons d'urine 1, 2, et 3 proviennent d'une porteuse de germes typhiques, prélevés à diverses reprises.

Urine 4 était l'urine d'une malade atteinte de cystite staphylococcique.

Urine 5 de même que Salive 2. Expectoration 1 et Selles 3, appartiennent à un seul individu sain. Ces produits ont été prélevés simultanément.

Urine 6 était une urine d'une malade atteinte de cystite tuberculeuse, surinfectée de staphylocoques ;

Salive 1 provient d'un échantillon personnel. Vu notre manipulation constante de Bactériophages, nous faisons toutes nos réserves concernant sa présence habituelle dans la salive.

Crachats 2 proviennent d'une bronchitique chronique.

Selles 1 et 2 d'enfants en convalescence de fièvre typhoïde.

Nous faisons remarquer les résultats nettement douteux (marqués du signe ?) que nous avons observés à maintes reprises au cours de nos recherches. Dans ces cas il semblait y avoir présence de Bactériophage dans le 1[er], 2[e], et même 3[e] répiquage, mais l'absence de lyse ultérieure.

En résumé donc, dans les 6 échantillons d'urine, 2 de salive et d'expectorations, 3 de selles ensemble 13 examens :

Le Bactériophage actif pour B. Hiss se retrouve 1 fois sur 5 (urine), 7 examens négatifs.

De même le Bactériophage B. Shiga 1 fois (urine) sur 13 (6 urines).

Le Bactériophage B. Hérelle (13) ne se retrouve jamais.

Le Bactériophage B. Coli 1 fois (Salive) sur 7 (2 salives).

Le Bactériophage B. Voldagsen 2 fois (Salive. Crachats). (sur 13).

Enfin le Bactériophage B. Typhus se retrouve 2 fois (salive, selles) sur 12.

Nous avons de plus examiné l'action de ces divers filtrats, sur l'Entérocoque et le Staphylocoque blanc. Toutefois tous nos essais sont restés négatifs.

Signalons pour terminer cette question, quelques titrages effectués en vue de connaître la réaction de certains filtrats.

Ainsi au bloc de WALPOLE, le filtrat de Urine 5, Salive 2, Expectoration 1, Selles 3, qui, l'on s'en souvient, proviennent du même individu, ce filtrat donnait :

Urine	5	pH	8.3
Salive	2	pH	6.4
Expectoration	1	pH	6.4
Selles	3	pH	7.8

Nous donnons ces chiffres sans commentaires.

B. — LE BACTÉRIOPHAGE DANS LE RÈGNE ANIMAL

I. Chez *le cheval*.

Nous avons recherché le Bactériophage dans 9 déjections de chevaux. Les 5 premiers échantillons examinés appartiennent à des chevaux différents, mais d'une seule écurie en ville. Chevaux 6 et 7, d'une part, 8 et 9 d'autre part, vivaient dans des fermes aux environs de Louvain. Le tableau 2 montre l'ensemble des résultats.

TABLEAU 2.

		Groupe Dysentérique			Groupe Coli	Groupe Paratyphique	
		B. Hiss	B. Shiga	B. Flexner	B. Hérelle	B. Voldagsen	B. Grosse rate (paraty. B.)
Cheval	1	+	—	-	—	—	O
	2	+ +	+ +	O	+	—	O
	3	+ +	+ +	+ +	—	—	—
	4	+	+	+ *	—	—	—
	5	+	+ +	+ +	—	—	—
	7	+ +	+ +	+ +	—	—	O
	8	—	—	—	—	—	O
	9	+ +	+	+ +	+ +	?	O

Echantillon 6 a tout simplement été examiné au point de vue de son action éventuelle sur anaérobies. Les essais ont porté sur B. Histolyticus, B. du tétanos, B. Sporogenes, B. Aerofoetidus et le

Vibrion septique. Aucune action lytique n'a été en aucun moment remarquée vis-à-vis de ces germes.

Nous retrouvons donc du Bactériophage Hiss, dans 7 essais sur 8 effectués.

Le Bact. B. Shiga 6 fois.

Le Bact. B. Flexner 5 fois sur 7.

Au contraire le groupe Coli, représenté par B. Hérelle, n'est lysé que dans 2 cas sur 8.

Les Paratyphus B, B. VOLDAGSEN et B. GROSSE RATE n'ont pas été inhibés, au cours de ces expériences.

Conformément aux résultats de d'HÉRELLE, (1) ce sont dans les déjections chevalines, les microbes du groupe dysentérique, qui sont le plus fréquemment lysés, dénotant donc l'existence d'un Bactériophage adapté spécialement à ces souches.

2) *Chez la vache* :

Nous avons entrepris 4 examens de bouse de vaches, celles-ci vivant chacune dans un milieu différent.

TABLEAU 3.

	Groupe dysentérique			Gr. Coli	Groupe Typhus Paratyphus		Divers	
	B. Hiss	B. Shiga	B. Flexner	B. Hérelle	B. Voldagsen	B. Typhus	Staph. blanc	B. de Bang. (Avort[t] Epizootique bovidés.
Vache 1	+ + +	+ +	O	o	+	O	O	O
2	—	—	—	—	—	—	O	O
3	+ +	+ + +	—	—	+ *	O	—	—
4	+	+ +	+ +	+ +	+ *	+ *	—	—

Un essai fait chez V4, avec des anaérobies, notamment B. Histolyticus B. Sporogenes, B. du tétanos, Vibrion Septique, n'a donné que des résultats négatifs.

En résumé, les B. Hiss, Shiga, dans le groupe dysentérique, le B. Voldagsen dans le groupe Paratyphique, sont lysés 3 fois sur 4,

Le B. Flexner, B. Hérelle et B. Typhus, 1 fois sur 4. Les

(1) D'HERELLE. *Op. cit.*, p. 181.

Bactériophages que nous isolons de la bouse de vache, peuvent, comme l'indique le tableau, s'y retrouver en grande quantité, et doués d'une haute virulence, même pour diverses souches à la fois, tel l'échantillon V4.

3) *Chez la poule* :

Cinq échantillons de déjections de poules, vivant en 3 milieux différents ont été soumis à notre examen, et mis en présence des 3 groupes usuels, plus le Staphylocoque blanc, et le bacille de Bang. Le filtrat de Poule III, montrait des propriétés lytiques vis-à-vis de toutes nos souches considérées à l'exception du Staphylocoque blanc et du Bacille de Bang. Devant ces résultats nous avons essayé sa virulence sur d'autres souches microbiennes, à savoiri B. du charbon, B. Friedlander, B. fluorescens, Staphylocoque doré, B. de la diphtérie. B. proteus 24, l'Entérocoque, B. Pyocyaneus, et diverses variétés de PARATYPHUS, AIN, GALLINARUM, WILLEMS, PFAFFI. Le filtrat n'a manifesté aucune action durable vis-à-vis de ces souches. Nous disons, durable ; en effet, certains tubes ensemencés avec le filtrat étaient encore nettement stériles dans les premières heures, alors que le tube contrôle, renfermant la souche microbienne seule, s'était déjà bien développée. Restés quelque peu perplexes devant ce phénomène, nous avons à tout hasard, recherché la réaction du filtrat. Celui-ci s'est révélé d'une alcalinité égale à 2 cc de NaOH décinormale pour 5 cc de filtrat. Cette alcalinité, probablement à mettre sur le compte des phosphates alcalins, peut expliquer de deux façons différentes les phénomènes observés : soit dans le sens d'une inhibition de la culture par l'alcalinité du filtrat, soit dans le sens d'une activité d'un bactériophage adapté à un milieu alcalin, et qui ne parvient pas à s'adapter au pH du bouillon.

Nous reproduisons dans le tableau 4 ci-contre les résultats observés :

TABLEAU 4.

	Groupe dysentérique			Gr. Coli		Gr. Typhus Paratyph			Divers	
	B. Hiss	B. Shiga	B. Flexner	B. Coli	B. Hérelle	B. Voldags.	B. Entérid.	B. Typhus	Staphyl. bl.	Bac de Bang.
Poule 1	+++	+++	+	O	+++	+	—	O	—	—
2	+++	+++	+++	O	+++	++	—	O	—	—
3	+	++	+	++	+++	+	++	+	—	—
4	—	+	—	+	+	—	—	O	O	O
5	O	O	O	O	+++	O	O	O	O	O

Faisons remarquer que ce Bactériophage HÉRELLE P5, très virulent au sortir du filtrat, s'est montré dans la suite beaucoup plus faible.

Vu sa haute activité dans le premier repiquage pour le bacille d'HÉRELLE, seule souche examinée, nous l'avons fait agir sur deux souches de Streptocoques, le Méningocoque, B. Proteus D, B. Proteus 21, B. Fluorescens, B. de la séborrhée grasse. Malheureusement ces essais sont restés infructueux.

Nous sommes par conséquent en droit de conclure :

1. Qu'il existe notamment chez la poule, des Bactériophages actifs pour les trois groupes usuels. Dans nos expériences, le Bactériophage s'est montré actif :

Pour le B. HISS, B. FLEXNER, et B. VOLDAGSEN 3 fois sur 4 recherches pratiquées ; le B. SHIGA, B. HÉRELLE et B. COLI sont toujours lysés, (5 fois sur 5) et semblent être chez la poule, les microbes les plus réceptifs.

Le B. Enteritidis est influencé 1 fois sur 4.

2. Que la virulence de ces Bactériophages peut être très accentuée, en même temps que très variée, c.-à-d. s'exerçant sur plusieurs souches microbiennes à la fois. Dans notre second mémoire, nous verrons qu'il faut expliquer cette activité vis-à-vis de plusieurs souches, non comme des « co-virulences » selon l'expression de d'HÉRELLE, (1) mais comme des Bactériophages parfaitement différents.

4) *Chez le cobaye et le lapin.*

Des échantillons prélevés dans 3 milieux différents et portant sur les déjections de 3 cobayes et 2 lapins, se sont montrés tous négatifs vis-à-vis des souches de nos 3 groupes usuels ; toutefois un Bactériophage Typhus a été isolé chez Lapin 2. Ce Bactériophage était doué d'une virulence extrêmement faible, que les repiquages ultérieurs n'ont pas accentuée.

En parcourant la littérature, nous n'avons trouvé que deux auteurs signalant la présence de Bactériophage chez le cobaye, à savoir DUMAS (2) et LISBONNE (3).

5) Nous avons en outre recherché le Bactériophage dans des déjections de diverses provenances, et dont les résultats sont donnés dans le tableau 5. Des essais faits avec le Bacille de Bang et le Staphylocoque blanc, sont restés négatifs.

---

(1) D'HÉRELLE. *Op. cit.*, p. 186.
(2) DUMAS. *Op. cit.*
(3) LISBONNE, BOULET ET CARRÈRE. *C. R. de Soc. de Biol.* t. LXXXVI, p. 341.

TABLEAU 5.

		Groupe dysentérique			Gr. coli	Gr. Paratyphus B.	
		B. Hiss	B. Shiga	B. Flexner	B. Hérelle	B. Voldagsen	B. Entérides
Chien	1	—	+	O	—	—	O
	2	—	+	++	—	—	O
	3	—	—	—	—	—	O
Chat		—	+*	-	-	—	O
Mouton		—	+	O	—	—	O
Chèvre		—	—	—	—	—	—
Porc		++	—	O	++	—	O
Souris		—	—	—	—	—	O
Pigeon		—	—	—	—	—	—

Quant aux conclusions qui s'en dégagent, il n'est évidemment pas possible de conclure à la présence ou absence *normale* du Bactériophage, chez ces animaux, certaines expériences ne comportant qu'un seul examen pour un animal donné.

B. Le Bactériophage dans l'eau.

Le second milieu auquel nous nous sommes adressé pour établir l'habitat du Bactériophage, c'est l'eau. 4 échantillons ont été expérimentés. Nous ne sommes pas les premiers à faire ces recherches. Dumas, en effet, ainsi que nous l'avons signalé plus haut, a isolé de l'eau de conduite, de l'eau de ville et de l'eau de la Seine, divers bactériophages. Nous faisons cependant remarquer que sa technique diffère sensiblement de la nôtre.

En effet, il opère sur des quantités d'eau variant de 150 cc à un litre et ensemencées dans 250 cc de bouillon. Au contraire, dans nos essais, nous ne prélevons que 5 à 6 cc d'eau que nous ensemençons ensuite dans 40 cc de bouillon.

TABLEAU 6.

		Groupe dysentér.	Groupe Coli		Groupe Typhus-Paratyphus		
		B. Shiga	B. Hérelle	B. Coli	B. Voldagsen	B. Entérides	B. Typhus
Echant.	1	—	—	—	—	—	—
	2	+ +	+ +	+ +	+ +	+	+
	3	+ +	+ +	+	+ +	+	+
	4	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ + +

Echantillon 1, était de l'eau de conduite de la ville de *Louvain*. Elle est filtrée sur une épaisse couche de sable avant d'être livrée à la consommation, et son analyse bactériologique la révèle très pure (ne renfermant pas même 1 colibacille par 5 cc d'eau, ensemencée sur bouillon phéniqué).

Echantillon 2, provenait de l'eau de l'étang de l'Institut ; eau stagnante, d'une superficie de 100 m^2 environ, et sur laquelle vivent une dizaine de canards. Pas de poissons. Le filtrat a été ensemencé en outre sur 2 souches de Streptocoques, et sur une souche d'Entérocoque, et de Staphylocoque avec résultat négatif.

Echantillons 3 et 4 provenaient de l'eau de la Dyle, le 1er à son entrée en ville, le 2^{d} à sa sortie. Tous les deux ont donné un résultat négatif quant à la présence éventuelle d'un Bactériophage du choléra des poules.

Les deux prélèvements ont été faits dans des conditions météréologiques et hydrologiques identiques.

Un fait digne de remarque, c'est la haute teneur en Bactériophage des eaux polluées et la virulence plus grande du Bactériophage à la sortie qu'à l'entrée en ville. Les déjections humaines, et de ce chef, la flore microbienne beaucoup plus variée et plus abondante à la sortie de la ville, sont sans doute redevables de ce phénomène.

En résumé, les eaux de la nappe, filtrées à travers d'épaisses couches de sable, comme c'est le cas pour celle de Louvain, et livrées ensuite à la consommation par une distribution à travers des conduites étanches, peuvent ne pas renfermer du Bactériophage. Par contre, les eaux stagnantes et les eaux de rivières dans lesquelles se déversent les ordures ménagères, et qui ne sont soumises à aucun procédé d'épuration artificielle, renferment des Bactériophages multiples, doués d'une haute virulence. Dans nos 3 essais de ce genre, le groupe Coli-Typho-dysentérique était chaque fois lysé.

C. LE BACTÉRIOPHAGE DANS LE SOL.

Nous n'avons recherché la présence de Bactériophage que dans 3 échantillons, dont voici la provenance.

Sable 1, a été prélevé dans une rue de LOUVAIN, dont le pavage était en réfection.

Sable 2, provenait d'un terrain de remblai et prélevé à ras de sol.

Terre : a été recueillie à la profondeur de 1 m. dans une couche de terrain d'alluvions, dans un endroit peu fréquenté.

Ces essais se firent avec nos souches habituelles, B. Shiga, B. Coli, B. Voldagsen, B. Entérides et B. Typhus. Seul ce dernier fut inhibé dans les trois échantillons et dans les 3, le Bactériophage Typhus ainsi isolé resta longtemps d'une virulence très faible.

b. QUELQUES REMARQUES AU SUJET DE CERTAINES IRRÉGULARITÉS OBSERVÉES.

En parcourant ainsi du regard, les différents tableaux marquant la présence, la répartition et la virulence des Bactériophages dans ces divers milieux, trois faits frappent surtout l'attention :

1. L'irrégularité de sa répartition. Tandis que les échantillons du sol récèlent surtout des principes actifs pour le B. Typhus, les déjections de cheval, elles, renferment surtout des Bactériophages dysentériques. Chez la poule, le groupe Coli est attaqué de préférence, d'autre part les cobayes et lapins en contiennent beaucoup plus rarement.

2. Un autre fait, digne de remarque, c'est l'irrégularité manifestée dans son action. Ainsi, dans un cas donné, un Bactériophage, au sortir du filtrat, est trouvé actif pour B. Hiss et B. Flexner, ou B. Flexner et B. Shiga, sans qu'il lyse B. Shiga, dans le 1er ou B. Hiss dans le second cas.

Nous pouvons dire la même chose d'un Bactériophage actif dans des déjections pour une souche Coli, mais n'attaquant pas une variété de celle-ci, le B. Hérelle. Les recherches de d'HÉRELLE sont d'ailleurs absolument analogues aux nôtres, quant à ces anomalies.

3. Cette irrégularité devient encore plus apparente, et moins expliquable, lorsqu'on examine l'activité d'un filtrat vis-à-vis du germe infectant, quand une infection existe.

Spécifions : l'urine 4 (tableau 1) provenant d'une malade atteinte de cystite staphylococcique, donne un Bactériophage actif pour les souches HISS et SHIGA, mais sans le moindre effet sur le germe infectant. De même lorsque nous avons recherché du Bactériophage Typhus chez les porteurs de germes ou des convalescents de fièvre typhoïde, ces essais sont restés négatifs. La présence du Bactériophage d'un germe morbide n'est donc pas en rapport avec la maladie occasionnée par ce dernier.

CHAPITRE II.

Sur la pluralité des Bactériophages.

On se rappelle qu'au cours du premier chapitre, nous avons attiré l'attention sur certaines irrégularités constatées chez le Bactériophage, dans sa répartition dans les divers milieux, de l'élection variable pour diverses souches, d'un échantillon à l'autre, dans la discordance qui peut exister dans une infection entre le germe en cause et la présence et l'activité du Bactériophage qu'on en isole. Ces diverses constatations nous invitèrent à nous demander s'il fallait admettre l'existence soit d'un, soit de plusieurs Bactériophages. L'étude en était relativement aisée ; il suffisait de s'adresser à des Bactériophages adaptés primitivement au même microbe. En effet, on pouvait examiner de quelle façon se comportaient les microbes devenus résistants, vis-à-vis de nouveaux Bactériophages adaptés à la même souche. On appelle microbe résistant, le germe qui pousse dans un tube ensemencé de Bactériophage, après une période d'inhibition plus ou moins longue, et qui est devenu réfractaire à une nouvelle action du même principe lytique.

Les recherches qui seront développées au cours de ce chapitre prouvent indubitablement qu'il y a lieu d'admettre la pluralité des Bactériophages Les arguments que nous faisons valoir, et qui nous engagent à admettre cette pluralité, sont au nombre de trois, à savoir :

a) Les expériences des résistanc réciproque.
b) L'étude des propriétés biologiques des Bactériophages.
c) La neutralisation des Bactériophages par leur antisérum.

Ce troisième fait, formant l'objet d'une partie de notre second mémoire, il n'en sera pas fait mention ici.

a) *Expériences de résistance réciproque.*

On peut se demander, comment se comportent des résistants vis-à-vis d'autres Bactériophages mais adaptés primitivement à la même souche.

A cet effet, nous avons institué une double série d'expérimentations.

1) La 1re a porté sur les résistances réciproques observées avec des Bactériophages actifs contre les B. Dysentériques SHIGA et HISS, et isolés des déjections de cheval et de la bouse de vache.

2) La 2me a porté sur l'action d'un principe lytique actif pour le B. Typhus, reçu d'HAUDUROY, sur les diverses souches de Typhus et Paratyphus de notre collection, comparée à celle observée avec un Bactériophage obtenu par adaptations successives du Bactériophage D'HÉRELLE au germe Typhus.

Une partie de ces recherches a été publiée déjà antérieurement en collaboration avec R. APPELMANS. (1) Les conclusions qui se dégageaient de cette étude, étaient les suivantes :

1) Il y a lieu d'admettre la pluralité des principes Bactériophages, car les différences observées entre les Bactériophages, des diverses provenances, ne s'expliquent pas parce que l'un des principes est plus virulent que l'autre, puisque l'inhibition des résistants est réciproque.

2) Des Bactériophages de provenance différente, peuvent réellement être différents entre-eux.

3) Lorsque leur provenance est la même, ils peuvent encore se comporter de telle façon, qu'ils semblent différents entre-eux.

GRATIA et JAUMAIN ont confirmé nos essais à ce sujet en utilisant des Bactériophages Staphylococciques de diverses provenances.

b) *Etude des propriétés biologiques des Bactériophages.*

Une fois ces premières données acquises, nous avons cherché par d'autres expériences à les confirmer. L'étude des propriétés biologiques des Bactériophages nous semblait le terrain de choix à cet égard. Parmi celles-ci, la résistance à la chaleur devait certainement nous fournir des renseignements. Diverses questions se posaient dans cette voie.

1° Les Bactériophages, isolés d'une même déjection, ont-ils tous la même résistance à la chaleur?

2) Cette résistance est-elle la même pour toutes les souches? Divers auteurs, (2) avaient déja publié certains résultats à ce sujet. Ceux-ci présentaient dans une question aussi simple, des écarts tels, qu'il y avait lieu de se demander si ces différences ne provenaient éventuellement pas du Bactériophage utilisé.

En effet, s'il est établi qu'il existe plusieurs espèces de Bactériophages, rien ne prouve qu'ils doivent tous présenter la même sensibilité à la chaleur.

Nous avons alors institué des recherches, de la façon suivante : nous chauffons du Bactériophage, bien actif, en ampoules scellées, au bain-marie, à des températures progressivement croissantes de 4 degrés, depuis 60° à 92°. Chacune de ces ampoules est chauffée durant une 1/2 heure, et ensemencée ensuite à raison de 2 gouttes pour une goutte de culture.

Nous donnons dans le tableau 7 la température la plus élevée, à laquelle nous n'avons plus pu reproduire la lyse transmissible en repiquant ultérieurement ces Bactériophages, par chauffage à 56°.

---

(1) R. APPELMANS et J. WAGEMANS. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVI, p. 758 (1922).
(2) TWORT, LANCET 1915.
D'HÉRELLE. *Op. cit.*
DE NECKER. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXXXVII.
WEINBERG et AZNAR. *C. R. Soc. de Biol.*, t. LXXXVII.
HAUDUROY. *C. R. Soc. de Biol.*, 18 novembre 1922.

TABLEAU 7.

	B. Hérelle	B. Shiga	B. Typhus II
Bactériophage Poule 1	72	—	—
— 2	72	> 76	—
— 3	> 72	> 72	—
— 4	72	—	—
— 5	> 72	—	—
— Louvain	76	72	72
— Eau de Bactériologie (Institut)	> 76	—	—
— Eau de Dyle (entrée en ville)	—	> 76	72
— Eau de Dyle (sortie de ville)	> 72	72	86

Par le signe > nous signalons que la température de destruction est supérieure à celle indiquée, sans que nous ayons poussé nos investigations plus loin.

Les résultats consignés dans ce tableau, nous permettent d'établir :

1) que tous les Bactériophages ne résistent pas d'une façon égale à la température ;

2) que cette résistance dépend, non de la culture, mais de la provenance du Bactériophage ;

3) que des principes isolés d'un même filtrat, peuvent avoir une température de destruction très variable. Ainsi p. ex. le Bactériophage P2 adapté sur Hérelle est détruit à 72°, adapté sur B. Shiga, il ne l'est pas à 76°.

De même le Bactériophage Eau de Dyle (sortie de ville) dont le Shiga est détruit à 72°, le Typhus à 86°.

Ces résultats semblent donc indiquer, déjà sans autres données, que les Bactériophages peuvent être absolument distincts entre eux. Il existe parmi eux une extrême variabilité à ce point de vue.

Une étude plus approfondie sur la résistance au chauffage, d'un Bactériophage quelconque nous permettra d'en découvrir quelques propriétés nouvelles.

Prenons p. ex. le Bactériophage Hérelle, Eau de l'Institut, et chauffons le comme il a été dit plus haut, en ampoules scellées de 56° à 80°, durant une 1/2 heure. Voici ce que nous observons :

TABLEAU 8.

	Hérelle	Hérelle						
Après	culture seule	+ B. chauffé à 56°	+ B. chauffé à 60°	+ Bact. ch. à 64°	+ Bact. ch. à 68°	+ Bact. ch. à 72°	+ Bact. ch. à 76°	+ Bact. ch. à 80°
6	⊥	—	—	—	⊥	⊥	⊥	⊥
12	+⊥	—	—	—	⊥	+⊥	+⊥	+⊥
24 h.	+++	—	—	⊥	⊥	+++	+++	+++
3 jours	++++	⊥	⊥	⊥	++	+	++++	++++

Le signe ⊥ signifie début de culture, le signe — son absence, le signe +, plus ou moins répété, le développement plus ou moins marqué de la culture.

Comme l'indique le tableau 8, l'action inhibitive du Bactériophage décroît progressivement à mesure que la température s'élève. Ainsi dans le tube chauffé à 72°, nous assistons à une destruction apparente du principe lytique, mais au cours du 3me jour de culture, nous voyons une lyse tardive se produire. Celle-ci doit s'expliquer, croyons-nous par le fait que le chauffage à 72° a presque détruit le Bactériophage dans sa totalité. Il en est résulté une disproportion entre le Bactériophage et les germes Hérelle, ces derniers étant en surnombre temporaire ; ce n'est que lorsque le Bactériophage aura acquis une virulence suffisante que la lyse pourra s'effectuer. Mais son action, invisible les 24 premières heures, peut cependant être mise en évidence, car il suffit de prélever une ampoule en ce moment, du tube de 72°, pour voir que le nouvel ensemencement jouit de propriétés lytiques.

Une question qui se présente tout naturellement à l'esprit en voyant ces résultats, c'est de savoir si les principes résistant au chauffage de 72°, sont différents de ceux de 56°.

Disons tout de suite, que si cette différence existe, elle n'est certainement pas une différence dans la résistance des Bactériophages à la chaleur, en d'autres mots, par le chauffage nous ne produisons pas une sélection de principes résistants, comme si ceux-ci persistaient seuls, les faibles étant détruits par ce chauffage.

En effet, il suffit de chauffer deux fois de suite un Bactériophage à une température proche de sa température de destruction, sans toutefois l'atteindre, pour voir que ce Bactériophage est totalement détruit.

Ainsi p. ex. prenons le Bactériophage Hérelle qui nous occupe.

Nous le chauffons dans une 1re ampoule à 60°, dans une 2de à 72°. Nous les ensemençons, et nous avons beau en repiquer ultérieurement le contenu, le Bactériophage reste définitivement détruit.

Notre Bactériophage est donc détruit par un chauffage répété à température inférieure à celle supportée dans le premier essai.

Une objection, logique en soi, peut nous être faite. Il se pourrait que si 72° n'est pas la température de destruction, celle-ci soit cependant très rapprochée d'elle, 73° p. ex. ; car la seule chose que nous savons, c'est qu'il est certainement détruit à 76°. Il suffirait alors d'une légère montée de la température durant le chauffage pour détruire le Bactériophage, alors qu'un chauffage précédent ne l'avait pas détruit, et nos résultats seraient ainsi faussés.

Pour obvier à cette objection, nous avons répété ces expériences avec un Bactériophage Typhus II, Eau de Dyle sortie, qui lui n'est détruit qu'à 86°, comme le montre le tableau.

Pour ne pas allonger démesurément cette étude, par des expériences d'ailleurs absolument identiques, disons tout simplement que nous avons chauffé deux ampoules de ce Bactériophage à 72° et à 76°. Le principe qui s'est développé dans les tubes a été chauffé le lendemain à 76°, dans les deux cas. Ce second chauffage a détruit complètement le Bactériophage Typhus, tout comme le Bactériophage Herelle dans le premier cas. En plus, ces expériences-ci nous mettent complètement à l'abri de l'objection formulée antérieurement. Ces résultats sont du même ordre que ceux observée par GRATIA, (1) concernant le changement dans la virulence des Bactériophages. Conformément aux conclusions de BORDET, il existerait dans le Bactériophage, des éléments très virulents, et des éléments de virulence atténuée. GRATIA a confirmé ces faits en isolant de certaines plages un Bactériophage très virulent, qui dilué à sa limite d'activité, donnait dans les derniers tubes, (la dilution la plus grande) un Bactériophage à virulence atténuée. Si on repique ce dernier, on constate de nouveau la présence de 2 principes distincts, le 1er à virulence exaltée, le 2me à virulence diminuée. En répétant de nouveau l'expérience avec ce dernier, l'on obtient des résultats identiques. D'où il résulte que la virulence d'un Bactériophage n'est pas une propriété qui doit nécessairement se conserver indéfiniment la même. Aussi, le fait que le chauffage répété d'un Bactériophage peut détruire celui-ci, s'explique parfaitement à la lumière des recherches de BORDET et GRATIA. Notre Bactériophage peut très bien supporter un premier chauffage mais ne pas en supporter un second.

Cependant il y a lieu d'admettre que dans certains cas il existe une différence de virulence dans les principes de repiquage ordinaire, et ceux qui supportent le chauffage à haute température. Voici une expérience qui permet de nous éclairer à ce sujet.

---

(1) GRATIA. *C. R. de Soc. Biol.* Janvier 1923.

Le Bactériophage Typhus, (Eau de Dyle, sortie de ville) est repiqué à 56° ; ce Bactériophage ayant résisté à la température de 80° (T. 7) est également repiqué à 56°. Après 3 repiquages analogues, le Bactériophage de 80°, ayant recouvert une virulence égale à celui de 56°, nous laissons des résistants s'y développer de part et d'autre. Nous repiquons ces résistants et nous les ensemençons avec leur Bactériophage respectif et réciproque.

Voici ce que nous constatons alors :

TABLEAU 9.

	Résist. Typhus du Bactér. total (seul)	Résist. du Bact. total, + le Bactér. Ty. total	Résist. du Bact. total + Bact. de 80°	Résist du Bact. de 80° (seul)	Résist. du B. de 80° + le Bact. total	Résist. du B. de 80° + le B. de 80°
Après 6	+	+	+	+	—	+
12	+	+	+	++	—	++
24 h.	++	++	++	+++	—	+++

Il en résulte donc, que le résistant de 80° est complètement inhibé par le Bactériophage de 56°, dont cependant le résistant n'est pas influencé par le Bactériophage de 80°.

Ces résultats doivent s'expliquer, soit par l'existence de plusieurs Bactériophages différents, dans le Bactériophage de 56° soit par l'existence dans ce principe, de Bactériophages à virulence différente, ceux de 56° pouvant encore inhiber les résistants de 80°, sans que l'inverse se produise. Des recherches instituées à ce sujet, dans notre second mémoire, viendront d'ailleurs éclairer ces données.

Enfin, pour terminer ce chapitre il nous est nécessaire de réfuter ici une objection, quant à notre technique, surtout après prise de connaissance de la note d'HAUDUROY. (1)

Tout récemment, celui-ci vient d'établir que les Bactériophages résistent différemment à la température et supportent indistinctement une température très élevée, à peu près identique pour tous. A ce propos, il distingue 1° une température d'inhibition, à laquelle les principes ne manifestent plus d'action lytique, et qui serait extrêmement variable ; 2° une température de destruction proprement dite, la même pour tous les Bactériophages.

Seulement,au lieu d'opérer avec une techniquesemblable à la nôtre, HAUDUROY chauffe ses Bactériophages à une température excédant

(1) HAUDUROY. *C. R. Soc. Biol.* 18 Nov. 1922.

100°, en tube ouvert, et durant 3 minutes seulement. Selon lui, la « température d'inhibition » ne détruit pas le Bactériophage; en effet, en le recherchant, non par repiquage à 56°, mais par filtration, on le retrouve toujours.

Nous avons alors répété en entier toutes nos expériences, nous en avons institué de nouvelles, chauffé à 80° un grand nombre de Bactériophages filtrés à 5-6 reprises, et nous n'avons jamais pu constater qu'il y avait moyen de récupérer du Bactériophage à cette température.

Toutefois, dans un seul cas il nous est arrivé de récupérer un Bactériophage par filtration, là où la méthode de repiquage par chauffage ne donnait plus de lyse. Il s'agissait du Bactériophage Typhus Eau de Dyle (sortie). Chauffé directement à 80°, ce principe ne montrait plus d'action par les repiquages à 56°; filtré, au contraire, il donnait la lyse ; mais il était détruit certainement à 86°. Au contraire en l'accoutumant d'une façon progressive à cette haute température, nous avons facilement obtenu un Bactériophage doué de propriétés inhibitives, sans qu'il nous ait fallu recourir à la méthode de filtration.

Les résultats d'HAUDUROY nous semblent donc fort sujets à caution, et il est probable qu'il y a lieu d'incriminer à cet égard la technique qu'il a suivie, notamment, le chauffage en tube ouvert, durant 3 minutes seulement.

Nous pouvons donc conclure :

1. Que les Bactériophages supportent d'une façon très inégale le chauffage à haute température. Il n'y a aucune règle fixe à donner à ce sujet, des Bactériophages de même origine, ou des Bactériophages adaptés primitivement tous à la même souche, pouvant se comporter entre eux de façon très variable.

2. Que pour un Bactériophage donné, la température de destruction peut être sujette à variations. Les chauffages répétés à température inférieure à la température de destruction normale, peuvent d'ailleurs abaisser sensiblement cette dernière.

3. Nos résultats ne permettent pas de faire une distinction entre la température d'inhibition et la température de destruction, ni d'admettre chez le Bactériophage une résistance dépassant 100°, comme l'avait formulé HAUDUROY.

Quant à la valeur du phénomène de résistance différente à la température, comme argument en faveur de la pluralité des Bactériophages, sa portée est certainement moins démonstrative que les résultats de l'inhibition réciproque des résistants par des Bactériophages donnés, ou que ceux concernant la neutralisation des Bactériophages que nous traiterons dans une étude spéciale. Ce phénomène ne constitue d'ailleurs qu'une proprieté biologique du Bactériophage, que nous avons cependant tenu à signaler vu sa netteté et qui, pris

à part est évidemment moins probant, que si nous le considérons dans le cadre fourni par un ensemble de propriétés biologiques des Bactériophages.

Parmi celles-ci, il en est de fait quelques-unes qui se prononcent, comme l'expérience de résistance à la température, dans le sens de la pluralité des principes lytiques. Citons à ce sujet :

a) L'action inhibitive. Quand on ensemence une culture quelconque avec des Bactériophages primitivement adaptés à cette souche, on peut s'apercevoir dans certain cas, que tout en étant repiqués un même nombre de fois, l'un inhibe immédiatement la souche microbienne, l'autre seulement après un laps de temps donné ; l'un agit durant quelques heures, le second, durant plusieurs jours, etc. Ces propriétés se conservent, et se révèlent identiques à chaque repiquage.

Nous donnons dans le tableau 10, 2 exemples d'action inhibitive. Le 1er Bactériophage isolé d'une plage d'étalement sur gélose donne une inhibition complète les 6 premières heures, après lesquelles on n'observe plus aucun éclaircissement par rapport au tube de culture ; le second Bactériophage, Vache 4, manifeste seulement son action après 12 heures de développement mais inhibe alors la culture durant plusieurs jours.

TABLEAU 10.

Après	Hérelle seul	Hérelle	
		+ Bactér. Hérelle plage I.	+ Bactér. Hérelle Vache 4.
6	+	—	+
12	+ +	+ +	+ +
24	+ + +	+ + +	+
2 j.	+ + + +	+ + + +	—
3 j.	+ + + +	+ + + +	—

b) La réaction du milieu. C'est surtout ASHESHOV (1) qui a prouvé la sensibilité des Bactériophages à la réaction du milieu et leur adaptation à une alcalinité ou acidité donnée. Dans nos essais, l'on se rappelle les résultats douteux observés au cours de l'isolement des Bactériophages dans les divers milieux. L'explication d'une

(1) ASHESHOV. *C. R. Soc. de Biol.* Janvier 1923.

absence d'adaptation à un milieu de réaction nouvelle peut facilement être admise ici.

En résumé donc, ces recherches concluent à la pluralité des éléments Bactériophages.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

De l'ensemble des expériences exposées au cours de ce mémoire, il résulte :

1. Que la *présence* des Bactériophages peut être démontrée dans un ensemble de produits très disparates, et que cette présence doit être considérée, non comme fortuite, mais comme fréquente, voire normale dans certains produits.

2. Quant à la *fréquence* : dans les déjections animales, le Bactériophage existe presque d'une manière constante, chez la vache, la poule, le cheval. Par contre les lapins et les cobayes en fournissent plus rarement.

Dans les déjections humaines on l'y rencontre moins fréquemment que ne l'affirme D'HÉRELLE dans ses conclusions. Chez les convalescents ou les personnes rétablies depuis peu d'une infection par un germe pathogène, le Bactériophage est souvent absent, d'où il résulte qu'il n'y a pas lieu de mettre une connexion si intime entre la guérison et l'apparition de Bactériophage.

3. Si nous envisageons alors quel est le germe inhibé, nous trouvons que le B. Shiga est le plus souvent attaqué, ensuite les souches Coli, enfin les microbes du groupe Typhique. Dans les déjections tant humaines qu'animales, il semble que le groupe Shiga soit de préférence lysé. Dans nos échantillons d'eau, au contraire, les 3 groupes étaient attaqués ; leur pollution par des produits très disparates, doit vraisemblablement l'expliquer.

En dehors de ces 3 groupes, il ne semble pas que le Bactériophage trouve un milieu de culture facile. Aussi nos expériences faites dans ce but, tant avec aérobies (et ici surtout le Staphylocoque) qu'avec anaérobies sont restées négatives.

4. Que dans un même échantilon, il est possible d'isoler des Bactériophages actifs pour plusieurs souches microbiennes. Cette constatation est mise par D'HÉRELLE sur le compte d'une exaltation de virulence, ou de co-virulences. Nos essais établissent qu'il ne faut pas considérer ce Bactériophage comme étant un seul principe, exerçant son action sur beaucoup de microbes, mais qu'il s'agit de Bactériophages différents.

Cette pluralité a été démontrée antérieurement par l'inhibition réciproque des germes résistants à l'action d'un Bactériophage donné, par un autre Bactériophage. Spécifions : si l'on considère l'action de Bactériophages, adaptés à une même souche microbienne, mais de

provenance différente, les germes devenus résistants à l'un d'eux, peuvent être réceptifs à l'action de l'autre Bactériophage. Etant donné que ce phénomène est réciproque, il ne peut pas s'expliquer par une différence dans la virulence, mais il faut l'attribuer à la diversité des principes lytiques, c. à. d. à leur pluralité.

D'autre faits plaident encore pour cette conception : 1° L'étude des propriétés biologiques des Bactériophages ; parmi celles-ci leur résistance différente à la température est à l'avant plan. 2° La neutralisation des Bactériophages par leur antiserum ; dont il sera question dans une étude spéciale.

Louvain, 15 mai 1923,

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN. — DIRECTEUR : PROF. BRUYNOGHE.

Sur la constitution des Bactériophages et leur neutralisation

par

J. WAGEMANS.

Dans une première étude intitulée « La recherche des Bactériophages dans la nature », nous avons montré qu'il y a lieu d'admettre l'existence de plusieurs espèces de Bactériophages. Nous avons été amené à cette conception, par le fait, que des microbes devenus résistants à un Bactériophage donné, peuvent encore être inhibés par des Bactériophages d'une autre provenance. Etant donné que cette action est réciproque, comme nous l'avons dit précédemment, il n'est pas possible d'expliquer ce fait par une différence de virulence ; il y a lieu de l'attribuer à la diversité même des principes lytiques. Plaide également pour la même conception, le fait que les Bactériophages peuvent se comporter très différemment au point de vue de leur résistance à l'action de la chaleur et des substances chimiques, et au point de vue de leur adaptation à lyser les microbes.

Dans le présent mémoire nous examinerons la neutralisation des Bactériophages, et toutes les questions relatives à la constitution de ces principes. Ici également, les résultats plaident nettement en faveur de leur pluralité.

Historique.

Quelques auteurs, notamment BORDET et CIUCA, MAISIN, D'HÉRELLE, BRUYNOGHE et APPELMANS, WAGEMANS, (1) se sont occupés de la question de la neutralisation du Bactériophage par son antisérum correspondant.

BORDET et CIUCA, et MAISIN ont établi que le Bactériophage peut être neutralisé définitivement par l'anti-Bactériophage, au point que les microbes, qui se développent dans le mélange en question,

(1) BORDET et CIUCA. *C. R. Soc. de Biologie*, p. 280, 1921. — MAISIN. *C. R. Soc. de Biologie*, p. 755, 1921. — D'HÉRELLE et ELIAVA. *C. R. de Soc. de Biologie*, p. 719, 1921. — BRUYNOGHE et APPELMANS. *C. R. de Soc. de Biol.*, 27 mai 1922. — WAGEMANS. *C. R. de Soc. de Biol.*, 2 décembre 1922.

ne subissent pas la moindre lyse, et se comportent comme des microbes normaux.

D'après d'HÉRELLE, cette neutralisation ne serait qu'apparente, et si l'on a soin de rechercher le principe lytique, par la méthode habituelle du chauffage, dans les cultures microbiennes développées en présence de Bactériophage additionné de son anti-sérum spécifique, il prétend en trouver encore actif. Comme nous le verrons plus loin dans notre exposé, tous les Bactériophages ne se laissent pas neutraliser avec la même facilité. D'aucuns ne peuvent même plus l'être du tout, et c'est peut-être à cela qu'il faut attribuer cette particularité observée par D'HÉRELLE. Ajoutons toutefois, que, conformément aux résultats publiés par BORDET et CIUCA, MAISIN et d'autres, la neutralisation du Bactériophage par son anti-sérum, est dans la généralité des cas définitive.

BRUYNOGHE et APPELMANS établissent dans la suite :

1. Qu'un sérum anti-bactériophage parfaitement actif, et apte à neutraliser définitivement le Bactériophage qui a servi à sa préparation, peut ne pas neutraliser un Bactériophage d'une provenance autre, quoiqu'actif pour le même microbe.

2. Que le sérum garde ses propriétés neutralisantes pour son Bactériophage adapté à d'autres souches microbiennes.

Ces expériences prouvent, pour la première fois, qu'il y a lieu contrairement à l'opinion de d'HÉRELLE, d'admettre la pluralité des principes lytiques.

Après eux, GRATIA et DE NAMUR (1) ont fait des constatations identiques au sujet de Bactériophages actifs contre le Staphylocoque.

Nous avons étudié à notre tour le mécanisme de cette neutralisation, et par des recherches appropriées nous nous sommes efforcé de résoudre sucessivement quelques problèmes relatifs à la pluralité et à la constitution des Bactériophages, à savoir :

1. Si les Bactériophages isolés des déjections d'un animal donné, et actifs pour différents germes, constituent un seul et même Bactériophage exerçant une virulence sur toute une série de germes, ou éventuellement autant de Bactériophages distincts dans leur essence même.

2. Si les Bactériophages actifs pour les mêmes germes, et isolés, soit chez des animaux différents de même espèce, soit dans un milieu tout différent, sont identiques ou non.

3. Si les Bactériophages isolés d'après la technique indiquée dans le 1er mémoire, ont une constitution simple, ou contiennent éventuellement plusieurs principes lytiques.

Chacun de ces points est traité dans un chapitre distinct.

(1) GRATIA et DE NAMUR. *C. R. Soc. de Biol.*, 1er juillet 1922.

CHAPITRE I.

Mécanisme de la Neutralisation.

Avant toute expérimentation, nous tenons à donner quelques renseignements d'ordre général.

Pour la préparation d'un sérum antibactériophage quelconque, le Bactériophage est injecté à des doses variables, de 1 à 4 cc. ordinairement, par voie intraveineuse, dans l'oreille d'un lapin. Les injections s'espacent de deux jours chaque, à moins de réaction générale ; certains lysats en effet, surtout les Bactériophages Coli et Typhus, mettent en liberté une énorme quantité d'endotoxines et donnent fréquemment lieu à des manifestations graves d'intoxication, si l'on n'a pas soin de débuter par des doses minimes, 0,5 cc soit 0,75 cc. Le nombre d'injections, pour un sérum neutralisant ordinaire, est de 8 à 10 injections ; après la dernière injection, le lapin est laissé au repos durant 15 jours. Après ce laps de temps, nous lui prélevons environ 50 cc de sang à la carotide. Le caillot une fois formé, nous décantons le sérum qui, après centrifugation, est ensuite réparti en petits tubes stériles. Nous croyons inutile de dire qu'une aseptie rigoureuse doit être à la base de ces diverses opérations.

Il est à remarquer que le sérum prélevé de la sorte, quinze jours après la dernière injection, a dû subir, du moins dans nos premiers essais, un contrôle préalable. En effet, il s'agit de voir si notre antisérum ne renferme plus de traces de Bactériophage, dont la présence compliquerait singulièrement les recherches. A cet effet, nous faisons le contrôle suivant :

Nous ensemençons 0,5 cc d'antibactériophage avec une goutte de culture qui a servi à la préparation de notre principe lytique, dans un tube de bouillon.

Après 24 heures de développement, nous prélevons une ampoule du tube renfermant l'antisérum, nous la chauffons durant 1 h. à 56°, et nous repiquons son contenu dans un nouveau tube de bouillon, ensemencé de la culture correspondante. Ni ce tube, ni les 3 tubes suivants, ne révèlent la présence de principe lytique. D'ailleurs il devait en être ainsi, puisque le Bactériophage à la suite des multiples injections précédentes est immédiatement neutralisé par les anticorps déjà formés. De plus les principes éventuellement non neutralisés, disparaissent en peu de jours de l'organisme, ainsi que l'a montré APPELMANS. (1)

Comme nous l'avons dit dans l'introduction, la neutralisation

---

(1) APPELMANS, R. Au sujet de la valeur thérapeutique du Bactériophage. *Arch internat. de Pharmacodyn.* Vol. XXVII, p. 85, 1922.

des Bactériophages par leur antisérum est dans la généralité des cas définitive.

En effet, quand on ajoute à du sérum spécifique une petite quantité de Bactériophage et qu'on laisse ces deux facteurs agir l'un sur l'autre durant un temps plus ou moins long, on constate que quelques gouttes de ce mélange, ajoutées à du bouillon ensemencé avec des microbes réceptifs, n'exercent plus la moindre influence sur le développement de ces derniers. Ces cultures chauffées ensuite à 56° et repiquées, ne permettent plus par des réensemencements ultérieurs d'y déceler des traces de Bactériophage.

Nous nous sommes demandé, si dans ce phénomène de neutralisation, l'alexine jouait un rôle quelconque. La chose pouvait être considérée comme peu probable, étant donné que les sérums antibactériophage conservés durant des semaines et même des mois, et de ce fait dépouillés de toute alexine, gardaient leurs propriétés neutralisantes.

Afin d'élucider définitivement ce problème, nous avons fait des essais de neutralisation d'une part avec du sérum frais, et d'autre part avec du sérum chauffé à 56° durant 1/2 heure.

Voici comment nous avons procédé :

Expérience : Le Bactériophage Hérelle *Louvain*, (c'est-à-dire souche Louvain) est injecté à 9 reprises à un lapin, à des doses variant de 1 à 3 cc. Nous obtenons de la sorte le sérum antibactériophage Hérelle-Louvain.

Nous établissons 2 séries d'expériences :

Dans la 1re série, nous prenons 7 petits tubes stériles :

le 1r reçoit 0,10 cc. d'antisérum Hérelle L. frais + 2 gouttes de Bactériophage Hérelle-Louvain.

le 2e reçoit 1/50 cc. d'anti Hér. L. frais + 2 gouttes de Bactér.

le 3e reçoit 1/100 cc. d'anti Hér. L. frais + 2 gouttes de Bactér.

le 4e reçoit 1/500 cc. d'anti Hér. L. frais + 2 gouttes de Bactér.

le 5e reçoit 1/1000 cc. d'anti Hér. L. frais + 2 gouttes de Bactér.

le 6e reçoit 1/5.000 cc. d'anti Hér. L. frais + 2 gouttes de Bactér.

enfin le 7e reçoit 2 gouttes de Bactériophage + 0,5 cc. d'eau physiologique, et sert de témoin.

Les diverses dilutions de l'antisérum sont toutes ramenées au volume de 0,5 cc avec de l'eau physiologique.

Dans la 2e série, nous opérons d'une façon identique mais avec de l'antisérum qui a été chauffé au préalable à 56° durant 1/2 h., et où l'alexine est par conséquent détruite.

De part et d'autre nous mélangeons convenablement l'antisérum et le Bactériophage, et nous les laissons ainsi en contact, à la température ordinaire, durant 4 jours.

Après ce laps de temps, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube, nous les ensemençons dans un tube de bouillon, et nous ajoutons une goutte de culture HÉRELLE. Le tableau I nous renseigne sur l'activité de notre sérum frais et chauffé.

TABLEAU 1.

Après	Hérelle seul	Hérelle					
		+ 1/10 anti B. + B. Hér. L.	+ 1/10 anti B. chauffé + B. Hér. L.	+ 1/50 anti B. + B. Hér. B.	1 +/50 anti B. chauffé + B Hér. L.	+ 1/100 anti B. + B. Hér. L.	+ 1/100 anti B. chauffé + B. Hér. L.
6	±	±	±	±	±	±	±
12	+±	+	±	±	±	+±	±±
24 h.	++	+	+	++	+±	++	++
48 h.	+++	+	+	++	++	+++	+++
Après		+ 1/500 anti B. + B. Hér. L.	+ 1/500 anti B. chauffé + B. Hér. L.	+ 1/1000 anti B. + B. Hér. L.	+ 1/1000 anti B. chauffé + B. Hér. L.	+ 1/5000 anti B. + B. Hér. L.	+ 1/5000 anti B. chauffé + B. Hér. L.
6		±	±	±	±	—	—
12		+±	+±	+±	+±	—	±
24		++	++	++	++	±	±
48 h.		+++	+++	+++	+++	±	+
Après		+ B. Hér. L. seul					
6		—					
12		—					
24		—					
48 h.		—					

Après 48 heures de développement nous constatons donc, que dans les tubes renfermant les dilutions d'antisérum au 1/10, et au 1/50 cc le développement de la culture est moins fort qu'aux dilutions suivantes. Ce résultat est dû à l'agglutination spécifique, et fausse nécessairement les premières observations. A la dilution au 1/5000 cc tant auprès du sérum frais qu'auprès du sérum chauffé, nous constatons une inhibition très manifeste dans le développement

du microbe HÉRELLE comparativement au tube contrôle : c. à. d. la culture seule, développée dans du bouillon, et non additionnée de sérum anti Bactériophage.

Nous prélevons alors, pour éclaircir davantage ces premières données, une ampoule des tubes renferment 1/10 cc, 1/500 cc, 1/1000 cc et 1/5000 cc d'anti, + B. Hér. L., et ce dans les 2 séries. Ces ampoules sont chauffées à 56° et réensemencées dans des tubes de bouillon contenant une goutte de culture Hérelle.

Nous constatons alors que la neutralisation reste définitive jusqu'à la dilution au 1/1000, inclusivement, et ce, de part et d'autre ; nous en concluons donc : que l'antibactériophage HÉRELLE Louvain neutralise son Bactériophage à la dose de 1/1000 cc pour 2 gouttes de principe lytique. Cette neutralisation est définitive. En effet, aux dilutions où nous avons trouvé la neutralisation, les repiquages et réensemencements ultérieurs ne permettent jamais de déceler la moindre trace de Bactériophage. Ces essais établissent en outre, que le sérum anti B. chauffé à 56° neutralise le Bactériophage d'une façon absolument identique au sérum frais. Nous pouvons en conclure que l'alexine ne joue aucun rôle dans le mécanisme de la neutralisation, et que l'anticorps est à l'instar des autres anticorps thermostabile.

Nous avons ensuite voulu examiner jusqu'à quel point cet antisérum pouvait résister à l'action de la chaleur, et nous avons trouvé que cette thermostabilité existe encore lorsqu'on chauffe l'anti Bactériophage à 65°. L'expérience suivante le prouve d'ailleurs.

Expérience : Nous mettons dans deux ampoules 0,1 cc. anti Hérelle Louv. + 2,4 cc d'eau physiol. Une ampoule est chauffée à 60°, l'autre à 65°, durant 1 heure. De ces solutions mères, nous préparons des dilutions successives jusqu'à la dose de 1/1000 cc. d'anti.

1re série : antisérum chauffé à 60°.

Le 1r tube stérile reçoit 1/50 cc. anti + 2 gouttes de Bactériophage Hérelle Louv.
Le 2e tube stérile reçoit 1/100 cc. anti + 2 gouttes Bact. Hér. L.
Le 3e tube stérile reçoit 1/200 cc. anti + 2 gouttes Bact. Hér. L.
Le 4e tube stérile reçoit 1/400 cc. anti + 2 gouttes Bact. Hér. L.
Le 5e tube stérile reçoit 1/800 cc anti + 2 gouttes Bact. Hér. L.
Le 6e tube stérile reçoit 1/1600 cc. anti + 2 gouttes Bact. Hér. L.

Les tubes de la 2e série sont disposés de la même façon, mais reçoivent les dilutions du sérum chauffé à 65°.

Toutes les dilutions sont ramenées à 0,5 cc de volume avec de l'eau physiologique.

Enfin un dernier tube stérile reçoit 2 gouttes Bactér. Hér. L. + 0,5 cc eau physiol. et sert de temoin.

Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons dans des tubes de bouillon additionné d'une goutte de culture HÉRELLE.

Si nous examinons l'ensemencement des tubes de la 1re série,

nous voyons que la neutralisation est définitive au 800e; les repiquages ultérieurs le prouvent d'ailleurs, et la lyse apparaît dans la dilution au 1/1600e. Le résultat est donc identique à celui du dosage avec sérum frais ou chauffé à 56°, où la neutralisation allait jusqu'au 1/1000e. Dans la 2me série au contraire, la neutralisation est effective jusqu'à la dose de 1/200e, plus loin l'inhibition de la culture est manifeste. Tout en étant donc moins actif que dans la 1re série, nous devons cependant en conclure que l'antibactériophage résiste encore au chauffage à 65°, durant une heure. PRAUSNITZ,(1) tout récemment, a d'ailleurs établi également que cet anticorps est thermostabile. Selon lui, l'antisérum pourrait supporter un chauffage de plus de 75°.

Après nous être de la sorte assuré que le Bactériophage et son antisérum spécifique se neutralisent d'une façon définitive, nous avons recherché s'il y avait lieu de rapprocher cette neutralisation du mécanisme de la combinaison de l'antitoxine avec la toxine, observée en immunologie. L'on sait, en effet, que celles-ci se combinent suivant la loi des multiples, c. à. d. que lorsqu'on mélange à une dose mortelle de toxine une dose d'antitoxine suffisante pour la neutraliser, on peut augmenter ces deux produits dans une même proportion, le mélange restera toujours neutre. Et de fait, ce qui est vrai pour les toxines, se vérifie également chez les Bactériophages, car lorsqu'on a déterminé l'activité de l'antisérum et qu'on augmente la dose neutralisante d'anti, et proportionnellement la dose de Bactériophage, la neutralisation reste toujours efficace, et il n'existe jamais trace de principe lytique dans les cultures ensemencées avec ce mélange.

Nous donnons ci-dessous un exemple, qui montre clairement cette assertion.

Expérience : Neutralisation du Bactér. Hérelle Louv. par son antisérum.

L'on se rappelle qu'avec 2 gouttes de ce Bactériophage, la dose neutralisante de cet anti était de 1/1000 cc.

Nous opérons alors de la façon suivante :

Un 1er tube stérile reçoit 0,1 cc. anti Hér. L. + 0,4 eau physiol. + 2 gouttes Bactér. Hérelle L.

Le 2e tube stérile reçoit 0,1 cc. anti B. + 0,4 cc. eau physiol. + 30 gouttes Bact.
Le 3e — — reçoit 0,1 cc. anti B. + 0,4 cc. eau physiol. + 50 gouttes Bact.
Le 4e — — reçoit 0,2 cc. anti B. + 0,3 cc. eau physiol. + 2 gouttes Bact.
Le 5e — — reçoit 0,2 cc. anti B. + 0,3 cc. eau physiol. + 30 gouttes Bact.
Le 6e — — reçoit 0,2 cc. anti B. + 0,3 cc. eau physiol. + 50 gouttes Bact.
Enfin le 7e - reçoit 2 gouttes de Bactériophage + 0,5 cc. eau physiol.

Après 4 jours de contact, nous prélevons comme d'ordinaire 2 gouttes de chaque tube et les ensemençons dans du bouillon avec 1 goutte de culture. Nous observons alors que la neutralisation est complète et définitive dans tous nos tubes.

---

(1) PRAUSNITZ. *Klin. Wochen*, t. I. 12 août 1922.

Une ampoule est ensuite prélevée de chaque tube et repiquée à 4 reprises différentes sans jamais présenter la moindre trace de principe lytique.

Cette expérience nous permet donc de conclure que la loi des multiples s'applique parfaitement au mécanisme de la neutralisation des Bactériophages.

Toutefois, si ce fait rapproche les principes lytiques des toxines, l'action du sérum antibactériophage se distingue cependant nettement de l'action du sérum antitoxique, et ce, principalement, parce que le temps exerce chez ce dernier une influence primordiale. En effet, si l'on mélange, comme nous l'avons indiqué ci-dessus des doses décroissantes d'antisérum et des doses constantes de Bactériophage et qu'on prélève de ce mélange quelques gouttes après quelques heures seulement, on constate que dans ce cas, le Bactériophage n'est nullement neutralisé ou que, du moins cette neutralisation n'est qu'apparente.

La neutralisation définitive ne s'obtient qu'après plusieurs jours de contact, et l'activité de neutralisation augmente à mesure que la durée de contact se prolonge.

Après contact de 3-4 jours, ainsi que nous avons pu le constater, la neutralisation était définitive et maximale, en ce sens, que dans les tubes où la neutralisation faisait alors encore défaut, le Bactériophage persistait, quelque fut d'ailleurs la durée ultérieure de contact.

Par contre, lorsqu'on ajoute à la dose mortelle de toxine la dose neutralisante d'antitoxine, on constate au bout de peu de minutes, une heure au maximum, que la neutralisation s'est opérée *ad integrum*. Il y a donc à ce point de vue une différence fondamentale entre la neutralisation des toxines et celle des Bactériophages.

Nous donnons ci-dessous quelques exemples, comme preuves de ces assertions.

Expérience : Soit le Bactériophage Typhus II, très virulent, et qui est injecté à 9 reprises à un lapin, à des doses variant de 0,5 cc. à 3 cc. Vu la précaution que nous avions prise de débuter par des doses minimes, les manifestations d'intoxication furent insignifiantes. Nous obtenons ainsi le sérum antibactériophage Typhus II.

Nous mettons alors dans une série de petits tubes stériles des doses décroissantes de sérum.

Le 1er tube	reçoit	1/10	cc. anti Typhus II +	2 gouttes de Bactér. Typhus II.
Le 2e —	reçoit	1/50	cc. anti +	2 gouttes Bact.
Le 3e —	reçoit	1/100	cc. anti +	2 gouttes Bact.
Le 4e —	reçoit	1/200	cc. anti +	id.
Le 5e —	reçoit	1/400	cc. anti +	id.
Le 6e —	reçoit	1/800	cc. anti +	id.
Le 7e —	reçoit	1/1600	cc. anti +	id.

Enfin un 8e tube reçoit comme témoin 2 gouttes de Bactériophage + 0,5 cc. eau physiol. :

Partout les dilutions sont ramenées à 0,5 cc.

Nous prélevons alors 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons dans des

tubes de bouillon additionnés d'une goutte de culture Typhus II et ce, aux intervalles suivants :

1) immédiatement après avoir fait le mélange ;
2) après un contact de 3 heures ;
3) après un contact de 12 heures ;
4) après un contact de 24 heures ;
5) après 4 jours de contact ;
6) après 13 jours de contact.

Voici quels ont été nos résultats à cet égard :

a) Ensemencement immédiat : Aucune influence neutralisante.

b) Après 3 heures de contact : Neutralisation apparente aux doses de 1/10 c, 1/50 c., et 1/100 cc. durant les 12 premières heures seulement. Après 24 heures la lyse apparait dans tous ces tubes.

c) Après 12 heures de contact. Neutralisation définitive à la dose de 1/10 cc. seulement.

d) Après 24 heures de contact : Neutralisation définitive à la dose de 1/10 cc. et passagère aux dilutions suivantes.

e) Après 4 jours de contact : Neutralisation définitive au 1/800 cc.

f) Après 13 jours résultat identique.

Nous avons maintes fois repris ces expériences soit avec d'autres sérums, soit avec d'autres souches microbiennes, et nous avons toujours pu constater que la neutralisation maximale ne s'obtient qu'après 3 à 4 jours de contact, et que l'ensemencement fait immédiatement après mélange de Bactériophage et de son antisérum ne produit jamais la neutralisation. Toutefois il nous est arrivé à 2 reprises que des sérums (il s'agissait de sérum neutralisant après 4 jours de contact leur Bactériophage à moins de 1/1000 cc) donnaient une neutralisation définitive après contact immédiat aux dilutions de 1/10, 1/50 cc d'anti. Néanmoins, d'après ce qui précède, il n'est pas possible d'identifier le mécanisme de la combinaison de la toxine et de l'antitoxine, avec la neutralisation du Bactériophage par son sérum correspondant.

CHAPITRE II.

Les Bactériophages isolés des déjections d'un animal donné, et actifs pour différents germes, constituent-ils un seul et même Bactériophage exerçant sa virulence sur toute une série de germes, ou éventuellement autant de Bactériophages distincts dans leur essence même ?

A l'effet d'élucider cette question, nous isolons des déjections d'un animal donné, un Bactériophage actif pour différents microbes, et nous avons soin de les repiquer un grand nombre de fois avant de nous en servir, et ce, afin d'en éliminer le Bactériophage commun

qu'il pourrait éventuellement contenir. Ces expériences ont été faites entr'autres avec les Bactériophages isolés des déjections de la Poule III. Les déjections de cet animal sont mises dans du bouillon, filtrées après 24 heures de contact, sur bougie Berkefeld, et nous ajoutons ensuite quelques gouttes du filtrat à des cultures ensemencées dans du bouillon. Les déjections en question contenaient des principes lytiques peu actifs pour le B. Hiss, B. Flexner, B. Voldagsen (paratyphus B.) et B. Typhus, bien actifs pour le B. Shiga, B. Enteritidis (paratyphus B.) et B. Coli, et très actifs pour le B. Hérelle (Coli).

De ces divers Bactériophages nous en avons choisi deux, pour lesquels nous avons ensuite préparé un antisérum ; ce sont les Bactériophages Coli P3 et Hérelle Poule 3, et nous verrons de la sorte successivement quelle est l'action neutralisante de ces sérums vis-à-vis des différents principes lytiques isolés simultanément de la Poule 3.

a) Neutralisation des bactériophages Poule III par l'antibactériophage Coli P3.

Donnons au préalable quelques renseignements au sujet de l'activité de ce sérum vis-à-vis de son propre Bactériophage.

Un lapin reçoit dans l'oreille marginale 13 injections de Bactériophage Coli P3, variant de 1 à 3 cc. Le sérum anti-Coli ainsi obtenu est mis en de petits tubes stériles, à des doses décroissantes.

Le 1er tube reçoit 0,25 cc. anti + 2 gouttes Bactér. Coli P3.
Le 2e — reçoit 1/20 cc. anti + 2 gouttes Bact.
Le 3e — reçoit 1/100 cc. anti + 2 gouttes Bact.
Le 4e — reçoit 1/500 cc. anti + 2 gouttes Bact.
Le 5e — reçoit 1/1000 cc. anti + 2 gouttes Bact.

Enfin le 6e tube reçoit 2 gouttes de Bact. seul + 0,5 cc., et après 4 jours de contact, nous en ensemençons deux gouttes avec la culture Coli dans des tubes de bouillon.

TABLEAU 2.

Après	Coli seul	Coli					
		+ 0,25 anti Coli + B. Coli P3	+ 1/20 anti Coli + B. Coli P3	+ 1/100 anti + B. Coli P3	+ 1/500 anti + B. Coli P3	+ 1/1000 anti + B. Coli P3	+ B. Coli P3 seul
0	+	+	+	+	+	+	—
12	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	—
24h.	+ + +	+ + +	+ + +	+ + +	+ +	+ +	—

En prélevant alors une ampoule de chaque tube et en les repiquant un certain nombre de fois, on peut constater que la dilution du 1/100 cc d'anti constitue la limite de la neutralisation. Au-delà, la lyse complète ne tarde pas à apparaître.

Une fois renseigné sur la valeur de notre sérum, nous le mettons en contact, à dose considérable, avec les Bactériophages Poule 3. Ceux-ci sont au préalable repiqués suffisamment et un même nombre de fois, pour qu'aucune différence dans leur virulence ne puisse être alléguée pour expliquer les phénomènes que nous allons constater. Ceux-ci sont très étranges, car au lieu d'avoir une neutralisation complète à laquelle il fallait s'attendre dans l'hypothèse de l'unicité de ces divers Bactériophages, nous n'observons au contraire, pas la moindre action de notre sérum vis-à-vis de ces principes lytiques. L'expérience suivante est d'ailleurs très démonstrative à ce sujet.

Expérience : Nous mettons dans un 1[er] tube 0,2 cc. anti Coli + 2 gouttes Bactériophage Shiga Poule 3 + 0,3 cc. eau physiol.

Un 2[e] tube reçoit 0,2 cc. anti Coli + 2 gouttes Bact. Voldagsen P3 + 0,3 cc. eau physiol.

Un 3[e] tube reçoit 0,2 cc. anti Coli + 2 gouttes Bact. Hérelle P3 + 0,3 cc. eau physiol.

Un 4[e] tube reçoit 0,2 cc. anti Coli + 2 gouttes Bact. Entérides P3 + 0,3 cc. au physiol.

Un 5[e] tube reçoit 0,2 cc. anti Coli + 2 gouttes Bact. Coli P3 (son propre) + 0,3 cc. eau physiol.

Enfin nous annexons à chacun de ces tubes, un tube stérile renfermant 2 gouttes de chacun de ces 5 Bactériophages seul + 0,5 cc. eau physiol.

Nous attendons quatre jours, et nous prélevons alors 2 gouttes de nos 10 tubes que nous ensemençons dans du bouillon avec leur culture correspondante.

Nous observons alors que comparativement au développement de sa culture correspondante, aucun de ces Bactériophages n'a été influencé par l'antibactériophage Coli P3 ; leur virulence, comparée à celle des principes qui n'ont pas subi le contact de l'antisérum, est absolument identique. Au contraire le Bactériophage Coli, pris comme témoin est parfaitement neutralisé. Notre anticoli, pris à une dose équivalente de 50 fois la dose neutralisante minima (1/100 cc) n'a donc pas la moindre action sur les Bactériophages isolés de cette même Poule, mais actifs pour d'autres microbes. D'autre part, si l'on admet l'unicité de ces Bactériophages, il faudra les considérer comme un seul principe lytique mais adapté à diverses souches microbiennes. Or, dans ce cas, nous savons, ainsi qu'il a été établi par BRUYNOGHE et APPELMANS, que les Bactériophages qui sont adaptés à d'autres souches microbiennes, restent cependant parfaitement neutralisés par l'antisérum correspondant au Bactériophage originel ; et inversément le sérum d'un principe adapté neutralise parfaitement le principe primitif. Nous avons nous-même vérifié ce fait par de nombreuses expériences. Aussi avant de conclure quoi que ce

soit concernant la pluralité des Bactériophages, il fallait vérifier si ce fait se confirmait ici, c. à. d. il fallait contrôler si le Bactériophage Coli P3 adapté à d'autres microbes se laissait encore neutraliser définitivement par son sérum. C'est au cours de ces expériences que nous avons constaté que dans certaines conditions les Bactériophages en s'adaptant à d'autres germes, peuvent ne plus être totalement neutralisés par le sérum originel. En effet, le Bactériophage Coli P3, adapté p. ex. au microbe Hérelle était parfaitement neutralisé par le sérum originel ; ce même principe, adapté aux souches Shiga et Voldagsen (Paratyphus B.) ne l'était plus d'une manière définitive. Nous donnons quelques exemples à ce sujet.

Expérience : Nous prenons du Bactériophage Coli P3, bien actif, et nous l'ensemençons avec une culture de B. Shiga. Les 12 premières heures, le Bactériophage Coli ne semble nullement inhiber notre Shiga ; mais après 24 heures, son action devient nette. Nous le repiquons ensuite un certain nombre de fois, et lors du 5[e] repiquage, notre Bactériophage est déjà très virulent pour la souche Shiga.

Nous appellerons ce Bactériophage : Shiga (Coli P3).

Nous essayons ensuite de répéter la même expérience en adaptant notre Bactériophage Coli P3 aux bacilles Voldagsen et Hérelle. Et de fait, après quelques repiquages, les 2 souches sont parfaitement inhibées. Nous appellerons ces deux Bactériophages : Bact. Voldagsen (Coli P3) et Hérelle (Coli P3).

Nous opérons alors comme suit :

Dans un premier tube nous mettons 0,2 cc. anticoli + 2 gouttes Bactér. Shiga (Coli P3) + 0,3 cc. eau physiol.

Le 2[e] reçoit 2 gouttes de Bactér. Shiga (Coli P3) + 0,5 cc. eau physiol. et sert de contrôle d'activité de ce Bactériophage.

Le 3[e] reçoit 0,2 cc. anticoli + 2 gouttes Bact. Voldagsen (Coli P3) + 0,3 cc. eau physiol.

Le 4[e] reçoit 0,5 cc. eau physiol. + 2 gouttes Bact. Voldagsen (Coli P3) (contrôle).

Le 5[e] reçoit 0,2 cc. anticoli + 2 gouttes Bact. Hérelle (Coli P3) + 0,3 cc. eau physiol.

Le 6[e] reçoit 0,5 cc. eau physiol. + 2 gouttes Bact. Hérelle (Coli P3) (contrôle).

Nous ensemençons alors, après 4 jours de contact, 2gouttes de chaque tube avec une goutte de culture correspondante, dans du bouillon. Voici ce que nous observons

TABLEAU 3.

Après	B. Shiga seul	B. Shiga + 0,2 anti Coli + Bact. Shiga (Coli)	B. Shiga + Bactér. Shiga (Coli)
6	+	+	—
12	+ +	+ +	—
24	+ +	+ +	—
48 h.	+ + +	+	+

Après	B. Voldagsen seul	B. Voldagsen + 0,2 anti Coli + Bact. Vold. (Coli)	B. Voldagsen + Bactér. Voldags. (Coli)
6	+	+	—
12	++	++	—
24	+++	++	—
48 h.	++++	+	—

Après	B. Hérelle seul	B. Hérelle + 0,2 anti Coli + Bact. Hérelle (Coli)	B. Hérelle + Bactér. Hérelle (Coli)
6	+	+	—
12	++	++	—
24	+++	+++	—
48 h.	++++	++++	—

Ainsi que le montre ce tableau, les Bactériophages Shiga, (Coli) et Voldagsen (Coli), tout en étant apparemment neutralisés par l'anticoli les 12 premières heures, inhibent ultérieurement la culture. Au contraire le Bactér. Hérelle (Coli) est définitivement neutralisé à cette dose. Nous avons alors mis ce Bactériophage en présence de 1 /100 cc d'anti Coli, dose qu'on se rappelle être la dose minima neutralisante pour son propre Bactériophage, et nous avons pu remarquer qu'à cette dose le Bactériophage Hérelle (Coli) était également neutralisé définitivement.

Notre Bactériophage Coli P3 ainsi adapté à diverses souches microbiennes, reste donc fortement influencé sous ces formes par l'anti Coli. Et s'il n'est accidentellement pas neutralisé définitivement sous la forme Shiga (Coli) et Voldagsen (Coli), l'influence n'en reste pas moins manifeste. D'autre part si l'on examine les résultats fournis par la neutralisation des divers Bactériophages comme tels, et qu'il faudrait considérer dans l'hypothèse de leur unicité comme un seul principe adapté à différentes souches, si l'on compare les résultats que nous donnent ces 2 expériences, il est aisé de voir que cette hypothèse est inadmissible.

Etant donné ces résultats, nous pouvons conclure que les Bacté-

riophages isolés chez la Poule 3 et actifs pour les souches Coli et Hérelle sont différents. Quant aux autres, les essais de neutralisation semblent également le démontrer, étant donné que d'une part l'antisérum Coli P3 n'exerçait aucune influence sur les Bactériophages isolés directement des déjections, et que d'autre part il exerçait une action transitoire mais très manifeste sur les Bactériophages adaptés. Ce manque de neutralisation n'est cependant pas à mettre sur le compte de la nature des microbes, étant donné que dans nos autres expériences le Bactériophage Shiga-adapté restait parfaitement neutralisé. Peut-être doit on l'expliquer par la complexité éventuelle de ce Bactériophage. Nous reviendrons d'ailleurs plus loin sur cette question.

b) Neutralisation des Bactériophages de la poule III par l'antisérum Hérelle P3 (II).

Avant d'aborder son étude, il est nécessaire de donner ici quelques explications concernant nos sérums Hérelle P3.

1° Nous injectons à 8 reprises un lapin à la veine marginale. Ces injections de Bactér. P3 varient de 2,5 cc à 3,5 cc. Le sérum ainsi obtenu, nous l'avons appelé antisérum Hérelle P3 (I). D'une série d'expériences qui seront exposées dans le 4e chapitre de ce mémoire (sur la complexité de certains principes lytiques) il résulte que cet anti ne neutralise pas son propre Bactériophage, pas même à la dose de 0,5 cc.

2° Nous avons alors refait à ce même lapin, une 2me série d'injections (13 injections), variant de 2 à 4,5 cc par injection. Cet anti neutralise le Bactériophage Hérelle P3 à la dose de 1/25 cc. Nous l'appellerons antisérum Hérelle P3 (II).

3° Pour contrôler ces données, nous commençons une série d'injections à un autre lapin qui reçoit de la sorte 13 injections de 1 à 3 cc de Bactériophage. Pas plus qu'au N° 1, nous ne constatons de neutralisation. C'est l'antisérum Hérelle P3 (III).

4° Pour rendre son sérum neutralisant, nous lui faisons une 2me série de 8 injections de 2 à 3 cc de Bactériophage. Il devient alors neutralisant à la dose de 0,3 cc d'anti. C'est l'antisérum Hérelle P3 (IV).

Les expériences de neutralisation développées au cours de ce chapitre, ont eu lieu avec le sérum anti Hér. P3 (II) dont l'étude détaillée sera faite ultérieurement. Disons donc tout simplement ici, que ce sérum neutralise 2 gouttes de Bactér. Hérelle P3 (son propre) à la dose de 1/25 cc après 4 jours de contact.

Expérience : Comme dans l'essai précédent, nous mettons ce sérum en présence des Bactériophages isolés de la Poule III, et nous prenons à cet effet une dose d'antisérum plus considérable, notamment 0, 2 cc.

Nous mettons alors dans un 1er tube 0,2 cc. anti Hérelle P3 + 2 gouttes Bactér Coli P3 + 0,3 cc. eau physiol.

Le 2e reçoit 0,2 cc. anti Hérelle + 2 gouttesBact. Enteritidis P3 + 0,3 cc. eau physiol.

Le 3e reçoit 0,2 cc. anti Hérelle + 2 gouttes Bact. Voldagsen P3 + 0,3 cc. eau physiol.

Le 4e reçoit 0,2 cc. anti Hérelle + 2 gouttes Bact. Shiga P3 + 0,3 cc. eau physiol.

Enfin le 5e reçoit 0,2 cc. anti Hérelle + 2 gouttes Bact. Hérelle P3 + 0,3 cc. eau physiol et sert de témoin.

Nous annexons à chacun de ces tubes, un tube stérile renfermant 2 gouttes de chaque Bactériophage additionné de 0,5 cc. eau physiol. Après 4 jours de contact, nou, prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons avec sa culture respectives comme usuellement.

Nous observons à la suite de cet ensemencement :

1° Que le Bactériophage Hérelle P3 est neutralisé par l'anti Hérelle P3 (II) — Cette neutralisation est définitive comme le montrent les repiquages ultérieurs.

2° Que les Bactériophages Shiga P3 et Enteritidis P3 ne sont jamais, en aucun moment, influencés par ce sérum.

3° Que les Bactériophages Voldagsen P3 et Coli P3, sont manifestement influencés, le second mieux que le 1er, par notre antisérum. Toutefois la neutralisation n'est pas définitive, car il suffit de repiquer les Bactér. qui ont été en contact avec l'anti, pour voir qu'au 3e repiquage, ces principes ont déjà une virulence presque égale à leur virulence primitive.

Les résultats de cette 2me expérience viennent donc confirmer en tous points la diversité des Bactériophages observée lors des essais faits avec le sérum anti Coli P3.

Les Bactériophages d'une même origine, isolés des mêmes déjections ne doivent pas nécessairement être considérés comme un Bactériophage unique, adapté aux différents germes. Bien au contraire, chez la Poule III, les Bactériophages isolés, sont absolument distincts entre eux. Cette virulence et cette multiplicité de plusieurs principes lytiques dans un même filtrat, est démontrée par leur absence de neutralisation par les antisérums de deux d'entre eux.

Remarque. Pour être complet dans cet exposé, disons, que nous avons également fait l'étude d'un sérum anti Entérides P3, obtenu par 9 injections de Bactériophage Entérides P3. Malheureusement cet anti ne neutralisait pas définitivement son propre Bactériophage. Toutefois, la différence constatée entre son action sur son propre Bactériophage et celle sur les autres principes lytiques de la Poule 3, était comparativement si évidente, que ces résultats sont en tous points semblables à ceux fournis par les deux antibactér. étudiés.

CHAPITRE III.

Les Bactériophages agissant sur le même germe microbien, mais de provenance différente, sont-ils identiques ou non ?

Après cette première constatation, que dans un organisme donné, les Bactériophages isolés peuvent être distincts entre eux, nous nous sommes demandé si les Bactériophages actifs sur les mêmes germes sont identiques entr'eux, soit qu'ils aient été isolés d'animaux de même espèce, soit d'animaux d'espèce différente, ou d'un autre milieu quelconque.

Dans une étudè antérieure (1) la pluralité des principes lytiques avait été établie :

1° Par les résistances réciproques ;

2° Par l'étude de qùelques propriétés biologiques, spécialement la résistance des Bactériophages à l'action de la chaleur ; et recemment (2) on a établi des différences de même ordre quant à leur résistance à l'action de certaines substances chimiques.

Nous nous étions réservé en ce moment d'établir cette pluralité par un 3[e] ordre d'expériences dont il sera question ici, à savoir la neutralisation par l'antisérum de l'un d'eux.

A cet effet nous choisissons tous nos Bactériophages primitivement adaptés à la souche Hérelle et nous faisons agir sur eux l'antisérum Hérelle P3 (II) que nous connaissons déjà.

Nous étudions d'abord *a*) son action sur les Bactériophages Hérelle isolés de déjections d'animaux de même espèce. *b*) ensuite son action sur les Bactériophages Hérelle d'autres provenances.

Ayant à notre disposition un autre sérum Hérelle, l'anti Hérelle Louvain, nous répètons cette double série d'expériences avec ce sérum-ci.

I. Action de l'anti Hérelle P3 (II)

a) *Sur les Bactériophages Hérelle isolés chez la même espèce animale.*

Avant d'aborder les expériences de neutralisation proprement dites, disons quelques mots de l'activité de ce sérum, passée sous silence dans le châpitre précédent.

(1) J. Wagemans. *Sur la recherche des Bactériophages dans la nature.*
(2) Bruynoghe et Brutsaert. *C R. Soc. de Biol.*, 31 mars 1923.

Expérience. — Nous mettons dans une série de tubes stériles, des doses décroissantes de sérum anti Hérelle P3 (II).

Un 1er tube reçoit 0,5 cc. anti, le 2e 0,1 cc, le 3e 1/25 cc., le 4e 1/100 cc. ; ces dilutions se trouvent sous 0,5 cc. de volume pour chaque tube, et nous ajoutons 2 gouttes de Bactér. Hérelle P3.

Comme contrôle nous mettons 2 gouttes de Bactériophage seul dans 0,5 cc. eau physiol. Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube, que nous ensemençons avec une goutte de culture. Les résultats de l'ensemencement, montrent (tableau 4) une neutralisation apparente jusqu'au tube renfermant 1/25 cc. anti. Plus loin la lyse se manifeste.

TABLEAU 4.

Après	Hérelle culture	Hérelle				
		+ 0,5 anti + Bact. Hér. P3	+ 0,1 anti + Bact. Hér. P3	+ 1/25 anti + Bact. Hér. P3	+ 1/100 anti + Bact. Hér. P3	+ B. Hér. P3 seul
6	+	+	+	+	+	—
12	++	++	++	++	++	—
24 h.	+++	+++	+++	+++	+++	—

Nous prélevons alors une ampoule de chaque tube et nous la repiquons dans un nouveau tube de bouillon, après chauffage à 56° durant 1 heure.

Le retard dans le développement de la culture, constaté dans les tubes renfermant la dilution au 1/100 cc anti, se prononce alors par le repiquage, et c'est ainsi que lors du 5e repiquage, dont nous pouvons considérer les résultats comme définitifs, nous constatons que le sérum neutralise son Bactériophage à la dose minimale de 1/25 cc.

Voyons maintenant comment se comporte le sérum vis-à-vis des Bactériophages isolés chez les Poules.

Expérience. — Nous mélangeons dans un 1er tube 0,2 cc. anti Hér. P3 (II) + 2 gouttes Bact. Poule 1 + 0,3 cc. eau physiol.

Dans un 2e tube 0,2 cc. anti + 2 gouttes Bact. Poule 2 + 0,3 cc. eau physiol.

Dans un 3e tube 0,2 cc. anti + 2 gouttes Bact. Poule 5 + 0,3 cc. eau physiol.

A chaque tube nous annexons un tube contrôle renfermant 2 gouttes de Bactériophage dans 0,5 cc. eau physiol. Nous laissons le contact se prolonger durant 4 jours, et nous ensemençons ensuite selon la technique habituelle. Voici les résultats de l'ensemencement :

TABLEAU 5.

Après	Hérelle seul	Hérelle					
		+ 0,2 anti P3 + Bact. Poule I	+ Bact. Poule I seul	+ 02 anti P3 + Bact. Poule 2	+ Bact. Poule 2 seul	+ 0,2 anti + B. Poule 5	+ Bact. Poule 5 seul
6	+	+	—	+	—	+	⊥
12	++	++	—	++	—	++	⊥
24 h.	+++	+++	—	+++	⊥	+++	+

Apparemment donc la neutralisation est complète partout. Nous prélevons alors une ampoule des 3 tubes ensemencés d'anti Hér. P3 et après chauffage à 56°, nous en ensemençons le contenu dans du bouillon additionné d'une goutte d'Hérelle.

Les Bactériophages Poule I et Poule 2 semblent encore neutralisés, mais le Bactériophage Poule 5 résiste à II l'antibactériophage. Les résultats du 4[me] repiquage, nous montrent que les Bactériophages Poule I et Poule 2 sont définitivement neutralisés, mais que le Bactériophage Poule 5 ne l'est pas.

Nous avons alors poursuivi l'expérience avec le Bactériophage Poule 5 ; nous l'avons mis en présence de 0,5 cc d'anti Hér. P3, et ici encore nos efforts sont restés vains. Ce Bactériophage n'est nullement neutralisable par l'anti Poule 3. Il y a donc lieu de le distinguer des trois autres Bactériophages.

Quant aux Bactériophages Poule I et Poule 2 il importait de préciser davantage la dose neutralisante, et à cet effet nous plaçons dans un

1[er] tube : 0,2 cc. anti Hérelle P3 + 2 gouttes Bact. Poule I + 0,3 cc. eau physiol.
2[e] tube : 1/25 cc. anti Hér. P3 + 2 gouttes Bact. Poule I + 0,3 cc. eau physiol.
3[e] tube 1/100 cc. anti P3 + 2 gouttes Bact. PI + 0,3 cc. eau physiol.
4[e] tube 1/400 cc. anti P3 + 2 gouttes Bact. PI + 0,5 cc. eau physiol.
5[e] tube 2 gouttes de Bact. PI + 0,5 cc. eau physiol. comme contrôle.
Une 2[e] série est ensemencée avec du Bact. Poule 2, toutes choses égales d'ailleurs.
Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de nos dix tubes, et nous ensemençons nos 2 séries avec une goutte de culture Hérelle.

Chez le Bactériophage Poule I nous constatons de la sorte une neutralisation allant apparemment jusqu'au 1/400 cc inclusivement. Chez le Bactériophage Poule 2 il se produit après 24 h. de développement un léger retard dans le développement de la culture du tube renfermant la dilution d'anti au 1/400, comparativement au tube

de culture contrôle. Après 48 heures cet éclaircissement devient beaucoup plus évident.

Nous prélevons alors de part et d'autre une ampoule de chaque tube, nous la chauffons à 56°, et nous la repiquons. Lors du 5e repiquage, dont les résultats peuvent être considérés comme définitifs, nous voyons que le Bactériophage Poule 1 est neutralisé à 1/25 cc anti, le Bactériophage Poule 2 au 1/100 cc anti.

Si l'on se rappelle que l'anti Hér. P3 (II) neutralise son propre Bactériophage à dose de 1/25 cc, on constate que le Bactériophage Poule 1 est neutralisé à la même dose que son propre, et le Bactériophage Poule 2 à dose de 1/100 cc, donc 4 fois moins forte que celle nécessaire à sa propre neutralisation. Ce fait est quelque peu étrange; nous tâcherons dans la suite d'en fournir l'explication.

b) *Action de l'anti Hérelle P3 (II) sur des Bactériophages de multiples provenances.*

Voyons maintenant comment se comportent les Bactériophages isolés de divers milieux mais actifs sur le même germe vis-à-vis de ce sérum. A cet effet, nous opérons avec les Bactériophages Hérelle Cheval 7, Vache 4, Porc, eau de l'Institut (étang), Eau de la ville (sortie de la ville), et Louvain. Il est entendu que ces Bactériophages ont subi un grand nombre de repiquages après leur isolement, avant d'être expérimentés.

Nous faisons ensuite 6 séries d'expériences identiques. Nous donnons ci-dessous le schéma de l'une d'entre elles.

Expérience. — Nous mettons dans un premier petit tube stérile 0,5 cc. anti Hérelle P3 (II) + 2 gouttes Bactériophage Cheval 7.

Dans un 2e tube : 0,1 cc. anti + 2 gouttes Bact. Chev. 7 + 0,4 cc. eau physiol.

Dans un 3e tube : 1/50 cc. anti + 2 gouttes Bact. Cheval 7, nous le ramenons à 0,5 cc. de volume.

Et enfin dans un 4e tube : 2 gouttes de Bactériophage Cheval 7 + 0,5 cc. eau physiol.

Nous agissons de la sorte avec nos 5 principes suivants, et après 4 jours de contact nous en prélevons 2 gouttes que nous ensemençons avec 1 goutte de culture Hérelle dans du bouillon. Ci-dessous nous résumons les résultats de cet essai :

1) le Bactériophage Cheval 7 est neutralisé apparemment jusqu'au 0,1 cc. anti P3.
2) le Bactér. Vache 4 également au 0,1 cc.,
3) le Bactér. Porc ne l'est qu'en présence de 0,5 cc. anti.;
4) le Bactér. eau de l'Institut à 0,1 cc.;
5) le Bactér. eau de Dyle (sortie) en présence de 0,5 cc. seulement et enfin
6) le Bactér. Louvain semble neutralisé partout.

Toutefois cette neutralisation n'est qu'apparente dans certains tubes. C'est ainsi qu'en prélevant une ampoule de chacun de ces tubes, nous constatons déjà au 1er repiquage la présence de Bacté-

riophage dans plusieurs tubes où il était apparemment neutralisé, entre autre à 1/50 cc anti chez le Bactériophage Louvain. Nous poursuivons alors les repiquages, et nous trouvons le résultat définitif du 4e repiquage, comme suit :

Les Bactériophages Porc, Eau Institut, Louvain sont donc neutralisés définitivement par 0,5 cc anti P3.

Le Bactériophage Vache 4 est neutralisé à dose de 0,1 cc anti ; enfin les Bactériophages Cheval 7 et Eau de Dyle (sortie) échappent à son action neutralisante.

Que l'on compare alors ces doses de sérum à celles nécessaires à la neutralisation du Bactériophage Poule 3 lui-même, qui est de 1/25 cc et il est aisé de voir que la grande masse de ces Bactériophages est peu sensible à son action.

Il résulte donc de cette double série d'expériences que les Bactériophages adaptés à la même souche, qu'ils proviennent d'animaux de même espèce ou de milieux tout différents, peuvent être distincts entre eux.

Etant en possession d'un sérum préparé par injections de Bactériophage Hérelle Louvain, nous avons voulu contrôler également l'action de ce sérum sur les Bactériophages que nous venons d'étudier.

II. Action de l'anti-Bactériophage Hérelle Louvain

a) *Sur les Bactériophages Hérelle isolés chez les Poules.*

Rappelons que nous avons étudié ce sérum en détail dans le 1er chapitre de ce mémoire, où nous avons vu que ce sérum neutralise 2 gouttes de son Bactériophage, à la dose de 1/1000 cc. Au lieu de faire un dosage de ce sérum pour nos 4 Bactériophages Poule 1, 2, 3, et 5, et instruit par l'expérience précédente, nous débutons directement par de fortes doses de sérum, notamment 0,5 et 0,2 cc d'anti.

Expérience. — Soit le Bactériophage Poule 1.

Nous mettons dans un 1er tube stérile 0,5 cc. anti Hér. Louv. + 2 gouttes Bact. Poule I.

Dans un 2e 0,2 cc. anti Louvain + 2 gouttes Bact. Poule 1. + 0,3 cc. eau physiol.

Enfin un 3e tube reçoit 0,5 cc. eau physiol. + 2 gouttes Bact. Poule 1. (contrôle).

Nous opérons de même avec nos Bactériophages Poule 2, Poule 3 et Poule 5.

Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chacun de ces tubes et nous ensemençons avec une goutte de culture.

Dans cet essai, les Bactériophages Poule 1, Poule 2 et Poule 3 ne sont nullement neutralisés par ces deux doses d'anti Louvain. Il suffit de les repiquer pour s'en assurer. Quant au Bactériophage Poule 5, apparemment neutralisé, les repiquages successifs font apparaître la présence de principes lytiques dans le tube ayant reçu

seulement 0,2 cc d'anti. Quant au 1[er], qui a reçu 0,5 cc d'anti, il reste définitivement neutralisé par cette dose. D'autre part lorsqu'on songe un instant à l'énorme quantité de sérum nécessaire à la neutralisation de ce Bactériophage et qui est de 500 fois la dose minimale nécessaire à la neutralisation de son propre principe (1/1000 cc), l'on comprend que dans ces conditions il ne peut pas être question d'une véritable identité de ces deux principes. Aussi croyons-nous qu'il faut expliquer cette neutralisation par la formation d'anticorps communs aux deux Bactériophages ; et il s'agirait dans l'espèce d'une co-neutralisation ou neutralisation par les anticorps accessoires.

Enfin ces expériences nous donnent un résultat apparemment inexplicable : à savoir que l'anti Hérelle Louvain n'a pas la moindre action sur le Bactériophage Poule 3, alors que le sérum de ce dernier, l'on s'en souvient (p. 20) neutralise parfaitement le Bactériophage Hérelle Louvain. On peut cependant aisément expliquer un semblable résultat, en admettant que le Bactériophage Hérelle P3 est de constitution complexe et contient, entre autres éléments, le Bactériophage Hérelle Louvain et d'autres principes lytiques. Il est évident que, dans ces conditions, les animaux injectés avec ce Bactériophage produisent un sérum neutralisant les deux ou plusieurs principes lytiques y contenus, et peuvent de ce fait, neutraliser et le Bactériophage Poule 3 et le Bactériophage Hérelle Louvain. Par contre, le Bactér. Louvain, étant de constitution plus simple, n'amène chez les animaux injectés que la production d'antibactériophage actif pour une partie seulement du Bactériophage Poule 3, et de ce fait, la neutralisation ne peut pas être définitive.

Dans le chapitre suivant, nous établirons que les Bactériophages ont une constitution complexe et qu'ils peuvent contenir différents principes lytiques. Nous croyons que cette complexité peut expliquer le manque éventuel de neutralisatioon de certains Bactériophages adaptés. En effet, les Bactériophages en se cultivant sur d'autres microbes, étant donné leur complexité, peuvent modifier la teneur respective de principes lytiques contenus en eux et de ce fait ne plus se prêter à la neutralisation complète et définitive. Aussi, comme nous l'avons dit dans le chapitre II, le Bactériophage Coli P3 adapté au microbes Hérelle est et reste neutralisable par l'anti Coli P3 alors que adapté aux souches Shiga et Voldagsen il ne l'est plus. Comme nous aurons l'occasion de le dire, le Bactériophage Hérelle P3 est de constitution complexe et il se peut que les principes lytiques qu'il contient se retrouvent dans les principes adaptés à d'autres germes dans une toute autre proportion que dans le Bactériophage originel.

Voyons maintenant pour finir ce chapitre, comment se comporte le sérum anti Hérelle Louvain vis-à-vis des Bactériophages Hérelle isolés de divers milieux.

b) *Action de l'anti Hérelle Louvain sur les autres Bactériophages Hérelle.*

Nous mettons nos 5 principes, Hérelle Cheval 7, Porc, Eau de l'Institut, Eau de Dyle (sortie de la Ville) et Vache 4, à raison de 2 gouttes chacun, en présence de 0,5 anti Hér. Louvain.

Nous prenons comme contrôle d'activité, nos Bactériophages seuls à raison de 2 gouttes dans 0,5 cc d'eau physiologique.

Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons avec une goutte de culture Hérelle dans du bouillon.

Nous assistons ainsi à une neutralisation apparente des Bactériophages Hérelle Cheval 7, Eau Institut, et Vache 4. Nous prélevons donc une nouvelle ampoule de tous ces tubes, et nous les repiquons après chauffage à 56°. Quant aux Bactériophages Eau de Dyle et Porc, ils ne sont certainement pas neutralisés, il suffit de repiquer le contenu du tube pour s'en apercevoir. Le 1er est à peine influencé par le sérum anti Louvain.

Les résultats du 4e repiquage nous permettent de constater ultérieurement que le Bactériophage Vache 4 est définitivement neutralisé, mais que le sérum n'a qu'une action transitoire sur les principes Cheval 7 et eau de l'Institut.

Conclusion : Des recherches exposées dans ce chapitre, et faites avec les antisérums Hérelle P3 (II) et anti Hérelle Louvain, il résulte que les Bactériophages, actifs pour le même microbe, mais de provenance différente, qu'elle soit de même espèce animale ou d'espèce ou milieu tout différent, peuvent être, selon les circonstances, distincts ou identiques entre eux. Toutefois, avant d'établir avec certitude qu'on a affaire à des Bactériophages absolument identiques, on ne peut nullement se fier à un seul essai de neutralisation, un Bactériophage pouvant être de constitution complexe et contenir entr'autres principes, le Bactériophage avec lequel on voudrait l'identifier.

CHAPITRE IV.

Certains Bactériophages sont très complexes et très difficilement neutralisables.

Nous nous proposons de prouver dans ce chapitre que certains Bactériophages sont très difficilement neutralisables par leur antisérum, et que cette difficulté doit s'expliquer par la complexité dans la constitution du Bactériophage envisagé ; complexité que nous mettrons ensuite en évidence. Nous verrons donc successivement :

A. La neutralisation par l'anti Hérelle P3 (1) de son propre Bactériophage Hérelle Poule 3.

B. La neutralisation de certains Bactériophages à action limitée, par leur antisérum respectif, et les expériences de vaccination qui en découlent.

C. La neutralisation des Bactériophages Typhus (Eau de Dyle sortie) total et ce même chauffé à 80°, par leur anti-sérum respectif et réciproque.

D. La neutralisation de certaines colonies de Bactériophages, isolées de Bactériophages complexes, tel Bact. Hérelle P3 et Typhus (Eau de Dyle) par leur sérum respectif.

A. LA NEUTRALISATION PAR L'ANTI HÈR. P3 (1) DE SON BACTÉRIOPHAGE.

Avant d'entamer cette question, nous voulons faire remarquer que tous les Bactériophages ne se prêtent pas également bien à la neutralisation. Dans notre exposé, nous avons à dessein passé sous silence l'activité du sérum anti Hér. P3 (1),le réservant pour ces pages. Si nous comparons son activité à celle d'autres sérums, nous observons des différences énormes. Ainsi, par ex. le sérum anti Hérelle Louvain fourni par un lapin ayant reçu 8 injections de Bactériophage Hérelle Louvain, est neutralisant encore à la dose de 1/1000 cc. Le sérum anti Hérelle Poule 3 fourni par un autre lapin après un même nombre d'injections n'était pas même neutralisant à la dose de 0,5 cc. Tel aussi le sérum anti Typhus Louvain actif après 9 injections au 1/800 cc, et le sérum anti Typhus Dyle actif seulement au 1/50 cc après 13 injections.

Notre sérum anti Hér. P3 (1) n'étant pas neutralisant, il nous a fallu répéter les injections de Bactériophage, et c'est seulement après plus de 20 injections que nous obtenons un sérum neutralisant, l'anti Hér. P3 (II) qui neutralisait le Bactériophage Hér. P3 à la dose de 1/25 cc. Comme nous l'avons montré dans le chapitre précédent, cet anti neutralisait le Bactériophage Hérelle Poule 1, également à dose de 1/25 cc, et le Bactériophage Hérelle Poule 2 à la dose de 1/100 cc.

Et le fait remarquable que nous tenons à signaler au cours de ces essais qui vont suivre, c'est que sans être neutralisant pour son propre Bactériophage, l'anti Hér. P3 (1) neutralise parfaitement les Bactériophages Hérelle Poule 1 et Poule 2.

1° *L'Anti Bactériophage Hérelle Poule* 3 (1) *ne neutralise pas son propre Bactériophage.*

Ce sérum, obtenu à la suite de 8 injections de Bactériophage variant de 2,5 à 3,5 cc, est mis à des dilutions successives en présence

de Bactér. Hérelle P3. Nous prenons comme doses d'anti dans un 1[er] tube stérile 0,5 cc, le 2[me] 0,2 cc, le 3[e] 1/50 cc, le 4[e] 1/200 cc. Nous ajoutons de l'eau physiologique pour ramener chaque contenu à 0,5 cc de volume, et nous les mettons en présence de 2 gouttes de Bactériophage Hérelle Poule 3. De plus un tube témoin, contient 2 gouttes de Bactér. + 0,5 cc d'eau physiol.

Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons avec une goutte de culture Hérelle.

Comparativement au développement de la culture, nous constatons seulement après 48 heures que le tube renfermant 0,5 cc anti + B. Hér. P3 devient moins trouble. Le tube renfermant 0,2 cc anti Bact. est manifestement inhibé par le Bactériophage. A des dilutions plus fortes, l'antisérum n'a aucune action.

Nous prélevons ensuite une ampoule de tous ces tubes et nous constatons qu'à la suite des repiquages le Bactériophage apparait plus manifestement dans ces deux premières dilutions. Cependant au 3[e] repiquage, le Bactériophage qui a été en présence de 0,5 cc antisérum n'a pas encore reconquis pleinement sa virulence primordiale. Il faudra un 6[e] repiquage pour lui rendre cette virulence.

Considérons un instant le contenu du tube du 2[e] repiquage. Il y a une inhibition très manifeste de la culture, et le Bactériophage y est certainement présent. Il n'est d'ailleurs pas possible de parler de neutralisation. Toutefois dans ces conditions, la culture Hérelle qui s'y développe après 12 heures doit être une culture résistante. D'autre part l'on sait que par définition un germe résistant est un germe qui, pouvant normalement être inhibé par un Bactériophage donné, pousse après un certain temps dans un tube ensemencé avec ce dernier, et qui résiste ultérieurement à son action. Notre culture Hérelle développée après 12 heures dans le tube du 2[e] repiquage est donc par définition, résistante au Bactériophage Hérelle Poule 3. Comment le prouver? Il suffit, on le sait, de cultiver ce germe résistant et de le mettre en présence de son Bactériophage Hérelle P3. Ce dernier n'aura jamais d'action sur lui.

Nous tenons cependant à faire cette expérience. Et à cet effet, nous prélevons 2 gouttes de culture résistante que nous ensemençons dans deux tubes de bouillon. Le développement de la culture dans le premier tube nous sert de témoin ; au second nous ajoutons une goutte de Bactériophage originel, et nous constatons que contrairement à toute prévision, contrairement du moins en apparence, à la définition même de germe résistant, nous assistons à une lyse complète du résistant !

Comment interpréter ce singulier résultat? On peut facilement admettre que le Bactériophage Hér. P3 au lieu d'être simple, est très complexe et formé par un mélange d'un certain nombre de Bactériophages Hérelle distincts, que nous groupons sous le nom commun de Bactériophage Hérelle Poule 3.

Supposons en effet, que ce Bactériophage soit formé de 3 souches de principes lytiques distinctes entre elles, et que nous appellerons A, B et C. L'antisérum Hérelle P3 (1) formé d'anticorps en nombre et proportion variables peut avoir formé des anticorps neutralisant définitivement les principes A et B, sans avoir formé d'anticorps C en nombre suffisant. D'où il résulte qu'en mettant notre antisérum en présence de Bactériophage Hérelle P3 total, le principe C ne sera pas neutralisé ; et que le germe Hérelle qui ne va pas tarder à se développer dans ce tube, sera résistant au principe C, mais sera normal vis-à-vis des principes A et B qui ont été neutralisés. Il s'en suit que si nous faisons agir sur ce résistant C le Bactériophage total, ce seront les principes A et B contenus dans ce dernier qui inhiberont la culture Résistante C, normale à leur égard.

On peut d'ailleurs reproduire parfaitement ce phénoméne en opérant sur un mélange de 3 Bactériophages distincts, actifs sur le même germe, et en faisant agir sur ces trois réunis un antisérum neutralisant l'un d'eux.

2° *L'anti Bactériophage Hér. P3* (1) *neutralise définitivement les Bactériophages Poule* 1 et 2.

Comme nous venons de le voir cet anti n'a aucune action neutralisante définitive sur son propre Bactériophage, et cependant il neutralise totalement les Bactériophages Poule 1 et Poule 2 à dose de 0,5 cc. Et ce fait n'est pas une irrégularité puisque, ainsi que nous l'avons vu p. 19 le sérum anti Hér. P3 (II) neutralise le Bact. Poule 2 à dose 4 fois moins forte que celle nécessaire à la neutralisation de son propre principe. Il suffit de considérer ce Bactériophage Poule 2 comme un élément constitutif du Bact. Hér. P3 pour comprendre parfaitement cette irrégularité.

Expérience. — Nous mettons en présence dans un 1er tube 0,5 cc. anti Hér. Poule 3 (I) + 2 gouttes Bact. Hér. P1.

Dans un 2e tube 0,5 cc. eau physiol. + 2 gouttes de Bact. Poule 1 (contrôle).

Dans un 3e tube 0,5 cc. anti H. P3 (1) + 2 gouttes Bact. P2.

Dans un 4e tube 0,5 cc. eau physiol. + 2 gouttes Bact. Poule 2 (contrôle).

Après 4 jours de contact nous prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons avec une goutte de culture.

Les résultats de ce 1er ensemencement semblent indiquer une neutralisation complète, et de fait, cette neutralisation était encore effective à l'issue du 5e repiquage ; nous pouvons donc la considérer comme définitive pour les 2 Bactériophages.

B. La neutralisation de certains Bactériophages a action limitée par leur sérum respectif et les expériences de vaccination qui en découlent.

Les divers faits que nous venons de constater dans le paragraphe A plaident évidemment en faveur de la complexité des Bactériophages. Nous nous sommes alors efforcés d'établir ces constatations par des expériences plus démonstratives.

Etant donné que certains sérums exercent sur les Bactériophages une action transitoire, partielle, nous avons essayé d'éliminer éventuellement de ceux-ci les principes neutralisables par les sérums en question. Nous avons fait ces essais entre autres avec les sérums anti Hérelle P3 (II) et anti Hérelle Louvain ; et nous avons essayé de neutraliser partiellement le Bactériophage Coli Poule 3 par ces deux sérums. Ceux-ci n'exerçaient de fait qu'une neutralisation transitoire sur ce Bactériophage, et nous avons isolé des tubes de bouillon additionné de quelques gouttes de mélange d'anti et de Bactériophage, un principe lytique à action apparemment plus limitée. Nous croyions avoir éliminé par cette opération les principes neutralisables par le sérum envisagé et obtenir éventuellement un Bactériophage à action plus simple.

Nous avons ensuite injecté ce Bactériophage que nous croyions ainsi devenu moins complexe à des animaux dans le but d'obtenir des sérums neutralisants, et après un grand nombre d'injections, nous avons saigné ces animaux et examiné les propriétés de leur sérum. Les résultats que nous avons obtenus avaient ceci d'extraordinaire, que le sérum obtenu n'était pas neutralisant pour le Bactériophage injecté, alors qu'il neutralisait parfaitement le Bactériophage originel, soi-disant plus complexe. Ces résultats nous obligeaient à admettre que par ces essais de neutralisation partielle, nous n'étions pas arrivés à éliminer complètement certains principes, puisque ce sérum gardait son activité neutralisante définitive sur le Bactériophage total.

Ces faits sont consignés dans une double série d'expériences exposées ci-après.

Expérience I. — Nous mettons en présence dans un tube stérile 0,5 cc. anti Hér. P3 (I) + 2 gouttes Bact. Coli P3.

Dans un 2e tube 2 gouttes de ce même Bactériophage + 0,5 cc. eau physiologique.

Nous laissons le contact se prolonger durant 4 jours et nous prélevons alors deux gouttes de chaque tube, que nous ensemençons avec la culture Coli. Comme il a été dit plus haut, nous obtenons une neutralisation apparente du Bactériophage Coli, mais ultérieurement, à la suite des repiquages, il acquiert sa virulence primitive. (Nous disons virulence primitive, entendant par là, qu'il inhibe durant le même laps de temps la culture Coli que primitivement).

Du tube du 3e repiquage nous prélevons une ampoule et nous en mettons 2 gouttes en présence d'une nouvelle quantité 0,5 cc. d'anti Hérelle P3. Cette fois-ci en l'ense-

mençant après 4 jours de contact, le Bactériophage Coli P3 est beaucoup moins nettement influencé par l'anti Hérelle, et ce en vertu des propriétés vaccinantes qu'il vient d'acquérir et sur lesquelles nous reviendrons. Le Bactériophage qui a donc été mis à 2 reprises en contact avec l'anti Hérelle P3 et que nous appellerons pour cette raison Bact. Coli — 2 × anti Hér. P3, est repiqué un certain nombre de fois, pour en éliminer toute trace d'antisérum, et injecté à un lapin.

Celui-ci reçoit 10 injections intraveineuses de 1 à 2,5 cc. Nous obtenons donc le sérum anti Coli — 2 × anti Hér. P3.

Nous mettons alors en présence :

dans un 1er tube : 0,5 cc. anti Coli — 2 × anti H. P3 + 2 gouttes Bact. Coli — 2 × anti Hér. P3. (son propre B.),

dans un 2e tube : 0,1 cc. anti id. + 2 gouttes Bact. id. + 0,4 cc. eau physiol.;

dans un 3e tube : 0,5 cc. anti id. + 2 gouttes Bact. Coli P3 (primitif).;

dans un 4e tube : 0,1 cc. anti id. + 2 gouttes Bact. Coli P3 + 0,4 cc. eau physiol.; enfin deux tubes contrôles reçoivent, le 1er 2 gouttes Bact. Coli — 2 × anti Hér. P3 + 0,5 cc. eau physiol.;

le 2e 2 gouttes Bact. Coli P3 + 0,5 cc. eau physiol.

Après 4 jours de contact, nous ensemençons 2 gouttes de chaque tube avec une goutte de culture et nous constatons alors ce fait surprenant, que le sérum Coli — 2 × anti Hér. P3 ne neutralise pas son propre Bactériophage, mais neutralise parfaitement le Bactér. primitif, ainsi que le montre le tableau que voici :

TABLEAU 6.

Après	Coli	Coli + 0,5 anti Coli — anti 2 × H. P3 + Bact. Coli — 2 × anti Hér. P3 (son propre Bact.,	Coli + 0,1 anti id. + Bact. id. (son propre)	Coli + 0,5 anti id. + Bact. Coli P3 (primitif)
6	+	+	+	+
12	++	++	++	++
24 h.	+++	++	+	+++

Après	Coli + 0,1 anti id. + B. id. (primitif)
6	+
12	++
24 h.	+++

TABLEAU 6 (*Suite*).

CONTRÔLES.

Après	Coli	
	+ Bact. Coli — 2 × anti Hér. P3	+ Bact. Coli P3
6	—	—
12	—	—
24 h.	—	—

Nous prélevons alors une ampoule de chaque tube, nous la repiquons, et lors du 4e repiquage, nous trouvons comme résultat définitif la neutralisation, même à 1/10 cc. du Bactér. Coli P3 primitif et l'absence, même à 0,5 cc., de neutralisation du Bactérioph. Coli — 2 × anti Hér. P3.

Nous trouvons par conséquent des résultats absolument inverses à ceux que nous attendions. En effet, si ces 2 additions de sérum anti Hérelle P3 avaient réellement enlevé du Bactériophage Coli primitif, certains éléments distincts, le sérum de ce nouveau Bactér. devait neutraliser ce dernier, mais n'avoir aucune influence ou du moins pas d'action neutralisante complète sur le Bactér. Coli primitif. Or ici c'est absolument le contraire qui se passe, et nous avons maintes fois répété ces essais !

Devons nous en conclure, soit que le Bactériophage n'était pas complexe, soit que la méthode pour l'obtention de Bactériophages à action limitée était défectueuse? Etant donné les résultats de la suite c'est à cette dernière explication que nous nous arrêtons.

Expérience 2. — Nous avons alors essayé une expérience identique avec le Bactériophage Coli P3, mais cette fois-ci avec avec l'anti Hérelle Louvain. Nous avons mis en présence dans un tube 0,5 cc. anti Hér. Louvain. + 2 gouttes Bact. Coli P3 ; après 4 jours de contact, nous en prélevons 2 gouttes et nous constatons que le Bactériophage est manifestement influencé par cet anti, mais ne tarde pas à regagner son activité, à la suite des repiquages.

Nous obtenons ainsi le Bactériophage Coli P3 — anti Hér. Louv. que nous injectons à 10 reprises, à des doses variant de 1 à 2,5 cc. par injection, à un lapin qui nous fournira donc un sérum que nous appellerons anti Coli — anti Louv.

Nous mettons alors comme précédemment dans un 1er tube : 0,5 cc. anti Coli — anti L. + 2 gouttes Bact. Coli P3 — anti L. (son propre).

2e tube : 0,1 cc. anti id. + 2 gouttes Bact. id. + 0,4 cc. eau physiol.

3e tube : 0,5 cc. anti id. + 2 gouttes Bact. Coli P3 (primitif).

4e tube : 0,1 cc. anti id. + 2 gouttes Bact. id. + 0,4 cc. eau phys.

5e tube : 0,5 cc. eau phys. + 2 gouttes Bact. Coli — anti L. (contrôle.)

6e tube : 0,5 cc. eau phys. + 2 gouttes Bact. Coli P3 (contrôle).

Aprés 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons avec une goutte de culture Coli, et nous observons comme précédemment que l'anti Coli-anti L. neutralise fort bien le Bact. total, ou primitif, Coli P3, mais n'a pas d'action sur son propre principe.

Ces résultats se conservent lorsqu'on repique une ampoule prélevée de chacun de ces tubes, c'est-à-dire : le Bactériophage propre n'est pas neutralisé tandis que le Bact. primitif l'est définitivement.

Essais de résistance du bactériophage à son anti-sérum.

L'absence de neutralisation de ces 2 Bactériophages soi-disant à action limitée était donc apparemment inexpliquable, et ce n'est qu'en mettant en évidence une nouvelle propriété des Bactériophages que nous sommes arrivé à élucider ce fait paradoxal. En effet, un Bactériophage parfaitement neutralisable peut ultérieurement devenir réfractaire à l'action de son anti soit en le mettant en contact avec des sérums qui n'exercent sur lui qu'une activité transitoire ou limitée, soit en le mettant en contact avec des doses graduellement croissantes de son propre sérum. PRAUSNITZ (1) a constaté absolument les mêmes faits.

Nous tâcherons de les mettre en évidence par une double série d'expériences. Dans la 1re nous rendrons notre Bactériophage réfractaire à son propre anti, en le mettant au préalable en contact avec des doses croissantes de ce sérum. Quelques anomalies constatées au cours de nos recherches, et que nous examinons ici, nous ouvraient d'ailleurs la voie. Dans la 2me nous rendrons notre Bact. réfractaire en le mettant au préalable en présence de sérums étrangers.

Voyons successivement ces 2 essais.

a) 1e SÉRIE : *La vaccination du Bactériophage contre son antisérum, par mise en contact avec son sérum propre.*

I. Le Bactériophage Typhus (Eau de Dyle sortie) dont nous parlerons dans le paragraphe suivant, injecté à un lapin, nous donne le sérum anti Typhus (Dyle). Nous faisons des dilutions successives de ce sérum dans de petits tubes stériles à raison de 0,1 cc dans le 1er tube, 1/50 cc dans le 2e, 1/200 cc dans le 3e, 1/800 cc dans le 4e. A ces doses, ramenées à 0,5 cc de volume, nous ajoutons 2 gouttes Bact. Typhus Dyle.

Après 4 jours nous ensemençons, et après un certain nombre de repiquages, nous constatons que notre Bactériophage est neutralisé définitivement à la dose de 1/50 cc.

Nous prélevons alors une ampoule du tube renfermant 1/200

(1) PRAUSNITZ : loc. citat.

anti Ty + B. Typhus, où il y a par conséquent du Bactériophage actif. Nous appellerons ce Bactériophage : B. Typhus (1/200). Nous refaisons alors un dosage analogue au précédent, c.-à.-d. ,nous mettons dans 4 tubes stériles 0,1, 1/50, 1/200, et 1/800 cc anti Typhus. Seulement, à la place du Bactériophage Typhus normal, nous les additionnons de 2 gouttes de notre ampoule renfermant Bact.Typhus (1/200).

Nous avons donc :
1[er] tube : 0,1 cc. anti Ty + Bactér. Typhus de (1/200) anti Ty + Bact. Typhus.
2[e] tube : 1/50 cc. anti Ty + B. id.
3[e] tube : 1/200 cc. anti Ty + B. id.
Enfin un 4[e] tube, servant de contrôle, reçoit le Bact. Typhus 1/200 seul.

Théoriquement après 4 jours de contact et après ensemencement, nous devons avoir comme dans le 1[er] cas, neutralisation complète aux dilutions de 1/10 et 1/50 cc anti, et absence de neutralisation seulement à la dose de 1/100 cc anti. Or voici que nous observons ce fait extraordinaire, que la neutralisation ne s'est opérée nulle part, pas même à la dose de 0,1 cc anti. Notre Bactériophage a donc acquis une propriété de résistance telle qu'il devient réfractaire à une dose équivalant 5 fois sa dose neutralisante minima.

II. Au cours de nos essais de neutralisation faits avec un autre sérum, anti Typhus (Eau de Dyle 80°) dont nous parlerons dans la suite, un fait assez extraordinaire avait apparu.

Il se faisait que en voulant doser l'activité de ce sérum pour son propre Bactériophage, nous constatons que ce dernier est neutralisé dans tous les tubes et ce jusqu'à la dilution au 1/800 cc anti, mais qu'à la dilution au 1/50, le Bactériophage était resté présent. Il n'y a cependant pas eu d'erreur de technique, en effet il suffit de refaire le dosage avec ce Bactériophage résistant, pour s'apercevoir qu'il n'est plus neutralisable même à la dose de 0,1 cc anti.

Expérience. — Nous mettons dans une série de tubes stériles 0,1 cc, 1/50 cc, 1/200 cc et 1/800 cc anti Typhus 80° + 2 gouttes Bact. Typhus 80° pour chaque tube.

Après 4 jours, nous en ensemençons 2 gouttes avec une goutte de culture.

TABLEAU 7.

après	Typhus seul	Typhus + 0,1 anti 80 + B. 80	Typhus + 1/50 anti 80 + B. 80	Typhus + 1/200 anti 80 + B. 80	Typhus + 1/800 anti 80 + B. 80
6	+	+	—	+	+
12	++	++	+	++	++
24 h.	+++	+++	++	+++	+++

Il y a donc neutralisation apparente jusqu'au 1/800 cc. Mais une anomalie évidente à la dilution de 1/50 cc. Nous continuons les repiquages, et partout le Bact. reste neutralisé, sauf à la dilution au 1/50. Disons ici en passant, qu'une anomalie pareille n'est pas du tout une rareté et que nous l'avons rencontré encore quelquefois au cours de nos expériences.

Nous prélevons alors une ampoule du tube renfermant 1/50 anti 80 + B. 80, et dont nous appellerons le Bact. : B. Typhus 1/50, et nous recommençons le dosage de notre antisérum, aux mêmes dilutions que précédemment mais en ajoutant dans chaque tube 2 gouttes de notre ampoule.

Contrôle : Bact. Typhus 1/50 cc seul : 2 gouttes + 0,5 cc eau physiol.

Après 4 jours de contact nous prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons avec la culture Typhus..

TABLEAU 8.

Après	Typhus seul	Typhus + 0,1 anti 80 + Bact. (1/50)	1/50 anti 80 + Bact. (1/50)	+ 1/200 anti 80 + Bact. (1/50)	+ 1/800 anti 80 + Bact. (1/50)	Bact. (1/50) seul
6	+	+	+	⊥	⊥	—
12	++	+⊥	⊥	—	—	—
24 h.	+++	+	⊥	⊥	⊥	⊥

Il n'y a donc plus nulle part de neutralisation. Cette absence s'accentue d'ailleurs clairement en repiquant ces tubes. Notre Bactériophage est donc devenu réfractaire à l'action de son propre antisérum.

b). 2e Série. *Vaccination du Bactériophage contre son antisérum par mise en contact avec un sérum étranger n'exerçant sur lui qu'une action transitoire et partielle.*

En opérant de la sorte avec nos principes lytiques, nous avons obtenu des résultats identiques aux précédents.

Comme exemple nous choisissons le Bactériophage Hérelle Louvain qui est neutralisé à la dose de 1/100 cc par l'anti-Hér. Louvain (après 4 mois de conservation de ce sérum à la glacière). Nous

mettons le Bact. Hér. Louvain durant 4 jours en contact avec du sérum Hérelle P3(III) à la dose de 0,5 cc et qui ne le neutralise pas définitivement, tout en exerçant cependant une certaine influence sur lui.

Notre Bactériophage Hérelle (Louvain — anti P3) est alors. aprés 2 repiquages mis en contact avec des doses décroissantes de son antisérum.

Le 1[er] tube reçoit 0,1 anti Hér. Louv. + Bact. Hér. (Louv. — anti P3), 2 gouttes.
le 2[e] : 1/50 anti Louv. + Bact. id.;
le 3[e] : 1/100 anti Louv. + Bact. id.;
le 4[e] reçoit comme témoin le Bact. (Louv. — anti P3) seul 2 gouttes + 0,5 cc. eau physiol.
enfin le 5[e] reçoit également comme témoin la dose neutralisante minima d'anti Hér. L. 1/100 cc. + le Bactér. Hér. Louv. primitif.

Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube et nous ensemençons. Les résultats montrent que, apparemment le Bact. (Louvain- anti P3) est neutralisé à 1/100 cc ; au même point donc le Bactériophage primitif (tube contrôle). Toutefois au 1[er] repiquage, nous constatons que cette dilution contient du Bactériophage et qu'il n'est plus neutralisé qu'à la dose de 1/50 cc. tandis que notre contrôle reste parfaitement neutralisé.

L'on pourrait poursuivre des expériences ; prélever une ampoule du tube contenant 1/100 anti L. + Bact. (Hérelle Louv. — anti P3) en remettre 2 gouttes en présence de sérum anti-Hér. P3, et constater qu'alors le Bactériophage ne deviendra ultérieurement plus neutralisable par son propre anti. De fait nous avons fait et constaté ces expériences que nous passons sous silence pour ne pas allonger démesurément cet ouvrage. De plus, nous avons repris tous ces essais en mettant nos Bactériophages en présence de 2 sérums étrangers n'exerçant qu'une ébauche de neutralisation sur eux. Dans un cas, le Bactériophage s'est montré, comme plus haut, réfractaire à l'action de son propre anti, dans l'autre cas, ce sérum étranger n'a exercé sur lui aucune action vaccinante.

Remarque. On peut se demander, si en l'occurence, il ne suffirait pas de mettre le Bactériophage en présence de sérum normal pour le rendre dans la suite réfractaire à son antisérum. Des expériences identiques à celles relatées plus haut, faites avec du sérum normal, sont toutes restées négatives.

C. La Neutralisation des Bactériophages Typhus (Eau de Dyle, sortie) et Typhus (eau de Dyle, sortie 80°) par leurs sérums respectifs et réciproques.

N'étant pas arrivé à simplifier les Bactériophages par des neutralisations partielles, nous avons essayé d'arriver à un résultat en les soumettant à l'action de la chaleur. Comme nous l'avons établi dans

un mémoire antérieur, les Bactériophages se comportent différemment quant à la résistance à l'action de la chaleur, et par cette influence, on ne fait pas une sélection d'éléments particulièrement résistants, étant donné que dans les essais ultérieurs les Bactériophages peuvent être détruits par le chauffage. Cette opération pouvait cependant avoir occasionné une élimination de certains principes lytiques contenus dans le Bactériophage originel ; c'est d'ailleurs ce qui semble résulter de la réceptivité du Bactériophage total, aux germes devenus résistants au Bactériophage simplifié par la chaleur.

Ainsi le Bactér. Typhus (Eau de Dyle) chauffé à 80° fournit un Bactériophage résistant encore à cette Température. Les germes devenus résistants à ce dernier, subissent une inhibition complète par le Bactér. total, sans que l'inverse se produise, (p. 18 1er mémoire).

Nous avons alors examiné la neutralisation de ces 2 Bactér. et à cet effet, 2 lapins reçoivent 13 injections de Bact. soit Typhus total, soit Typhus chauffé à 80, à des doses variant de 1 à 3 cc.

Nous appellerons les sérums ainsi obtenus : anti Typhus total, et anti Typhus 80.

Expérience. — Nous mettons dans une série de tubes stériles :
Dans un 1er 0,5 cc. anti Typhus total + 2 gouttes Bact. Typhus total.
Dans un 2e 0,1 cc. id. + 2 gouttes B. id. + 0,4 cc. eau phys.
Dans un 3e 2 gouttes Bact. Typhus total seul (contrôle) + 0,5 cc. eau phys.
Dans un 4e 0,5 anti id. + 2 gouttes Bact. Typhus 80.
Dans un 5e 0,1 cc. anti id. + 2 gouttes B. Typhus 80 + 0,4 cc. eau phys.
Dans un 6e 2 gouttes Bact. Typhus 80 + 0,5 eau phys. (contrôle).
Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube que nous ensemençons avec la culture Typhus. Voici les résultats de cet ensemencement :

TABLEAU 9.

Après	Typhus	Typhus					
		+ 0,5 anti total + B. Ty. total	0,1 id. + B. id.	B. Typh. total (contrôle	0,5 id. + B. Typhus 80	+ 0,1 id. + B. Ty. 80	+ B.Typhus 80 (contr.)
6	+	+	+	—	+	+	—
12	++	++	++	—	++	++	—
24 h.	+++	+++	+++	—	+++	+++	+

Nous prélevons alors une ampoule de tous ces tubes, qui donnent, comme on le voit, une neutralisation apparente complète. Nous les

repiquons et nous constatons qu'au 5e repiquage ils se comportent encore de la même façon. Nous pouvons donc en conclure que le Bactériophage total et celui de 80 sont neutralisés au même point point par l'anti-sérum total.

Voyons maintenent comment se comporte l'anti Typhus 80.

Comme plus haut, nous opérons de la même façon, et nous mettons dans
un 1r tube 0,5 cc. anti 80 + Bact. Typhus 80 (son propre) 2 gouttes.;
un 2e tube 0,1 cc. anti 80 + B. id. + 0,4 eau phys.;
un 3e tube 0,5 cc. anti 80 + Bact. Typhus total, 2 gouttes.;
un 4e tube 0,1 cc. anti 80 + Bact. Typhus total, 2 gouttes + 0,4 cc. eau.

Après 4 jours nous ensemençons 2 gouttes et le résultat confirme pleinement l'expérience des résistances réciproques de notre 1r mémoire. L'anti 80 neutralise parfaitement le Bactériophage de 80, son propre, mais n'a aucune action neutralisante sur les Bactériophages qui ont été détruits par le chauffage à 80°.

TABLEAU 10.

Après	Typhus	Typhus			
	•	+ 0,5 anti 80 + B. Typhus 80 (son propre)	+ 0,1 anti 80 + B. id.	+ 0,5 anti 80 + B. Typhus total	+ 0,1 anti 80 + B. Typhus total
6	+	+	+	⊥	⊥
12	++	++	++	⊥	⊥
24 h.	+++	+++	+++	+	+

Cette expérience montre donc à coup sûr l'existence dans le Bact. Typhus (Dyle) d'au moins 2 espèces distinctes de Bacter. les uns détruits, les autres non, par le chauffage à 80°, espèces qui sont différentes dans leur essence même.

Elle constitue donc un argument indéniable de la complexité de certains Bactériophages.

D. Étude des Bactériophages sur plages, et la neutralisation des colonies isolées.

Le dernier procédé auquel nous nous sommes adressé pour mettre en évidence la complexité de certains Bactériophages, était l'étude des plages sur gélose inclinée. Certains auteurs à la suite de

D'HÉRELLE ont décrit sous le nom de colonies de Bactériophages des plages de diverses grandeur, où la culture disparaissait. Dès lors, dans l'hypothése de la complexité de ces principes il se pouvait que dans les colonies nous pouvions isoler des principes distincts entre eux. C'est ce que nous avons essayé de réaliser dans les expériences qui vont suivre et qui sont absolument probantes. De nouveau, nous nous sommes adressé aux Bactériophages Hérelle P3 et Typhus (Eau de Dyle sortie) dont la complexité est déjà partiellement mise en évidence par les résultats précédents.

a) *Etude des plages du Bact. Hérelle P3.*

Il importait avant tout d'avoir une dilution convenable du Bactériophage pour obtenir des colonies isolées. En tâtonnant nous nous sommes arrêté à un procédé que nous donnons sommairement ici.

Expérience.—Nous mettons dans une série de tubes stériles soit 1/50 soit 1/5000 cc., de culture Hérelle, et des doses variables de dilutions de Bactérioph. Nous procédons comme suit :

Le 1r tube reçoit 1/50 cc. cult. Hérelle + 1 goutte de Bact. diluée à 1/10.000 cc.
Le 2e tube reçoit 1/50 cc. cult. + 1 goutte de B. au 1/100.000 cc.
Le 3e tube reçoit 1/50 cc. cult. + 1 goutte de Bact. au 1/500.000 cc.
Le 4e tube reçoit 1/50 cc. culture seule, comme témoin.
Le 5e tube reçoit 1/5.000 cc. cult. + 1 goutte Bact. au 1/10.000 cc.
Le 6e tube reçoit 1/5.000 cc. cult. + 1 goutte Bact. au 1/10.000 cc.
Le 7e tube reçoit 1/5.000 cc. cult. + 1 goutte Bact. au 1/500.000 cc.
Le 8e tube reçoit 1/5.000 cc. culture seule comme témoin.

Il est entendu que les dilutions de Bactériophage et de culture se rapportent à 0,5 cc de volume. Nous mélangeons intimement et nous prélevons 4 gouttes de chaque tube que nous ensemençons sur des tubes de gélose, sur laquelle le liquide se distribue uniformément pour se déposer ensuite au fond du tube.

Le lendemain des colonies de diverses grandeur apparaissent, les unes à peine perceptibles à l'œil nu, d'autres plus grandes, certaines de 2 à 3 mm. et plus, de diamètre. C'est seulement dans les tubes ayant reçu la dilution microbienne au 1/50 que les plages sont décelables, la culture formant une couche mince et très uniforme sur la surface de la gélose (à la dilution au 1/5.000 les colonies microbiennes sont trop espacées).

Au moyen d'une anse de platine, nous touchons quelques colonies que nous émulsionnons dans des tubes de bouillon. Le lendemain, nous prélevons une ampoule de chaque tube, et nous l'ensemençons avec une culture Hérelle. Nous choisissons ensuite quelques-unes de ces colonies que nous désignons sous le nom de : Colonies A, B, D et F, qui sont des colonies à peine perceptibles, de faible virulence.

Col. E, qui a été prélevée au niveau d'une plage de 4-5 mm. de diamètre, d'assez faible virulence.

Col. X, qui avait environ 1 mm. de diamètre, de virulence très accusée.

Nous repiquons ces Bactériophages un grand nombre de fois et nous constatons que leur virulence ne se modifie guère.

Cette première constatation nous permet déjà d'établir :

1. qu'au point de vue de la virulence, les colonies peuvent être très différentes ; telles Col. A et X, cette dernière se comportant comme le Bact. Hér. P3 originel;

2. que exception faite pour Col. X, leur virulence comparée à celle du Bact. total est beaucoup moindre.

Nous prenons ensuite 2 colonies distinctes, l'une colonie A, de virulence faible, l'autre col. X de virulence forte, que nous injectons à des lapins, de façon à obtenir un antisérum, dont les propriétés neutralisantes devaient être plus limitées.

Et après une série de 17 injections à doses de 1 à 2 cc, les lapins injectés nous fournirent les sérums anti A et anti X que nous allons, pour la facilité, étudier séparément.

I. — *Etude de l'antisérum de la colonie A.*

a) D'abord son action sur le Bactér. Hér. P3 total.

Expérience. — A cet effet :
un tube stérile reçoit 0,3 cc. anti A + Bact. col. A: 2 gouttes (son propre).;
un 2e tube stérile reçoit 1/20 cc. anti A + B. col. A : 2 gouttes.;
un 3e 0,3 cc. anti A + B. Hér. P3 total : 2 gouttes.;
un 4e 1/20 cc. anti A + B. Hér. P3 total : 2 gouttes.
Deux tubes témoins reçoivent le 1r 2 gouttes Bact. A, le 2e 2 gouttes Bact. Hér. P3
Nous égalisons partout les volumes à 0,5 cc. et après 4 jours de contact, nous ensemençons.

TABLEAU 11.

Après	Hérelle	Hérelle					
	seul	+ 0,3 anti A B. + col. A (son propre)	+ 1/20 anti A + B.col.A	+ 0,3 anti A + B. Hér. P3 total	+ 1/20 anti A + B. Hér. P3 total	+ Bact. col. A	+ Bact. Hér. P3
6	+	+	+	—	—	—	—
12	+ +	+ +	+ +	—	—	—	—
24	+ + +	+ + +	+ + +	—	—	+	—
48 h.	+ + + +	+ + + +	+ + + +	—	—	+	—

Ainsi donc, notre anti A n'a pas la moindre action sur le Bactér. total, mais il neutralise son propre Bactériophage, définitivement à la dose de 1/20 cc ! Dés lors ce résultat vient confirmer nos conclusions relatives à la complexité des Bactériophages. Notre Bactér. Hér. P3 contenait des principes plus simples, colonie A en est un.

b) Voyons maintenant son action sur les autres colonies. Après nous être assuré que la dose neutralisante pour son propre Bact. est de 1/20 cc, nous mettons en présence 0,3 cc et 1/20 cc d'anti A. respectivement avec les bactér. des colonies B. C, D, E, F et X à raison de deux gouttes et nous égalisons à 0,5 cc.

TABLEAU 12.

Après	Hérelle	Hérelle					
		+ 0,3 anti A + B. col. B	+ 1/20 anti A + B. col. B	Col. B. seul	+ 0,3 anti A B. + col. C	+ 1/20 anti A B. Col. C. C	B. Col. C. seule
6	+	+	+	—	+	+	—
12	+ +	+ +	+ +	—	+ +	+ +	—
24	+ + +	+ + +	+ + +	+	+ + +	+ + +	+
48 h.	+ + + +	+ + + +	+	+	+ + + +	+ + + +	+
Après		+ 0,3 anti A + B. col. D	+ 1/20 anti A + B. col. D	B. Col. D seule	+ 0,3 anti A + B. col. E	+ 1/20 anti A + B. col. E	B. Col. E seule
6		+	+	—	+	+	—
12		+ +	+ +	+	+ +	+ +	—
24		+ + +	+ + +	+	+ + +	+ + +	+
48 h.		+ + + +	+ + + +	+	+ + + +	+ + + +	+
Après		+ 0,3 anti A + B. col. F	+ 1/20 anti A + B. col. F	B. Col. F seule	+ 0,3 anti A + B. col. X	+ 1/20 anti A + B. col X	B. Col. X seule
6		+	—	—	+	—	—
12		+ +	+ +	—	—	—	—
24		+ + +	+ +	+	—	—	—
48 h.		+ + + +	+ +	+	—	—	—

Les résultats de ces ensemencements et ceux des repiquages ultérieurs, nous permettent d'établir que les Bactériophages C, D, E sont neutralisés à la même dose que le Bact. A lui-même.

Les colonies B et F sont seulement inhibées par 0,3 cc anti A. Enfin, l'anti A n'a pas d'action sur la colonie X.

II. — *Etude de l'antisérum de la colonie X.*

a) Ce sérum neutralise son propre Bact. à la dose de 1/20 cc.

Nous mettons alors en présence 0,3 cc et 1/20 cc anti X d'une part, et d'autre part la col. X (son propre Bactér.), le Bact. Hér. P3 total, et toutes les autres colonies considérées antérieurement, à raison de 2 gouttes et dans un volume de 0,5 cc.

Comme témoin, nous prenons 2 gouttes de tous nos principes dans 0,5 cc eau physiol.

Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube, nous ensemençons, et nous constatons que le Bactériophage Hérelle P3 est neutralisé au même titre que col. X elle-même.

Tous les autres Bactériophages sont également neutralisés au même titre que le Bact. Hér. P3 total.

Le Bactériophage X est donc vraisemblablement identique quant à sa constitution, au Bact. Hér. P3, en effet, son antisérum neutralise tous les Bactér. isolés des diverses plages, il neutralise lui même le Bact. Hér. P3 originel, total, et le sérum d'une colonie isolée n'a aucune action sur lui.

Par contre, colonie A est un des éléments qui constituent le Bact. Hér. P3 complexe. Son anti n'a pas la moindre action sur le Bact. total, et une action limitée sur certaines colonies.

b) *Etude des plages du Bactériophage Typhus (Dyle-Sortie).*

La complexité de ce Bactériophage n'était pas à mettre en doute si l'on se souvient des expériences précédentes. Toutefois nous avons cependant tenu à lui fournir un argument en plus.

Nous avons adopté ici une technique un peu différente de la précédente mais donnant des résultats analogues. Nous liquéfions deux tubes de gélose ; lorsque celle-ci refroidie vers 50°, nous ajoutons au 1er tube 1 goutte d'une solution au 1/50.000 de Bactér. et au 2me une goutte d'une solution au 1/500.000 et de part et d'autre 4 gouttes au 1/500 de culture Typhus. Nous mélangeons rapidement, et nous en étalons dans une boîte de Pétri. Le lendemain une multitude de colonies apparaissent. Nous en prélevons quelques-unes que nous repiquons un certain nombre de fois.

Trois d'entre elles, Colonies I, II, III, ont une virulence atténuée que les repiquages ultérieurs n'augmenteront pas. Les colonies IV et V, au contraire, sont très virulentes.

Nous avons alors choisi la colonie 1, à virulence atténuée, pour l'injecter à un lapin. Après 17 injections de 1 à 3 cc nous obtenons un sérum anti I qui neutralise son propre Bactériophage à la dose de 1/1600 cc.

Expérience. — Nous mettons dans une série de petits tubes :

a) 0,3 anti I + Bact. Typhus total
1/20 anti I + B. id.
b) 0,3 anti I + Bact. col. II
1/20 anti I + B. id.
c) 0,3 anti I + Bact. col. III
1/20 anti I + B. id.
d) 0,3 anti I + Bact. col. IV
1/20 anti I + B. id.
e) 0,3 anti I + Bact. col. V
1/20 anti I + B. id.

} à raison de 2 gouttes de Bactériophage et 0,5 cc. de volume.
Témoins : ces Bactér. seuls + 0,5 cc. eau Physiol.

Après 4 jours de contact, nous prélevons 2 gouttes de chaque tube et nous les ensemençons avec une goutte de Typhus.

Le tableau 13 donne ces résultats :

TABLEAU 13.

Après	Typhus	Typhus					
		+0,3 anti I + Bact. Typhus total	+ 1/20 anti I + B. id.	+ Bact. Typhus total (seul)	+ 0,3 anti I + col. II	+ 1/20 anti I + col. II	+ Col. II seule
6	+	±	±	±	+	+	+
12	++	±	—	—	±+	++	+
24	+++	±	—	—	+++	+++	++
48 h.	++++	±	—	—	++++	++++	++++

Après	+0,3 anti I + col. III	+ 1/20 anti I + col III	+ col. seule	+ 0,3 anti I + col. IV	+ 1/20 anti I + col. IV	+ Col. IV seule
6	+	+	±	±	±	±
12	++	++	±	+	±	—
24	+++	+++	++	+	+	—
48 h.	++++	++++	++++	+	+	—

TABLEAU 13. (Suite).

Après	0,3 anti I + col. V	+ 1/20 anti I + col. V	+ Col. V seule
6	+	+	—
12	+	+	—
24	+	—	—
48 h.	+	—	+

Les répiquages ultérieurs montrent que le Bact. total, col. IV et V, ne sont pas neutralisés, par contre les colonies II et III le sont définitivement. Faute de temps, nous n'avons pas pu examiner si cette neutralisation allait jusqu'au 1/1.600 cc comme pour sa propre colonie I.

Toutefois, d'après ce qui précède, nous pouvons conclure, tout comme pour le Bact. Hér. P3, que grâce à ce procédé nous sommes parvenu à isoler de notre Bactériophage complexe des éléments plus simples et dont l'antibactériophage n'a pas d'action neutralisante pour le Bactériophage total.

Nous croyons que les arguments que nous avons apportés pour prouver la complexité de ces Bactériophages, sont d'assez grande valeur pour pouvoir l'admettre d'une façon péremptoire.

CONCLUSIONS.

Les recherches relatées dans le présent mémoire, nous permettent de tirer les conclusions suivantes :

1) Quant au mécanisme de la neutralisation, celle-ci se fait :

a) sans l'intervention de l'alexine ;

b) d'aprés la loi des multiples ;

c) toutefois elle se distingue de la neutralisation des toxines par les anti-toxines, par la lenteur de la réaction ; la neutralisation du Bactériophage par le sérum, ne se fait qu'après une durée d'action prolongée;

d) Tous les Bactériophages ne se laissent pas neutraliser avec la même facilité, et dans certaines conditions, ils peuvent même devenir résistants à l'action neutralisante du sérum.

2) Quant au Bactériophage, conformément à l'idée émise par Bruynoghe et Appelmans, il y a lieu d'adhérer à la conception de la pluralité des Bactériophages.

En partant de ce principe nous avons établi que :

a) chez un animal donné, les Bactériophages qu'on isole des déjections, et actifs pour des microbes différents, peuvent être des Bactériophages distincts et non un Bactériophage unique, virulent pour les diverses variétés de microbes ;

b) les Bactériophages isolés chez des animaux de même espèce ou d'espèce différente (provenances diverses) et actifs pour le même microbe, peuvent être différents entre eux. Cette pluralité est établie:

1. par des expériences de résistance réciproque ;
2. par les essais de neutralisation ;
3. par la résistance différente à l'action de la chaleur et des substances chimiques, etc.

c) les Bactériophages isolés d'après la technique habituelle, c.-à.-d. en ajoutant quelques gouttes de filtrat à du bouillon, peuvent être complexes et contenir des Bactériophages différents. Cette complexité résulte du fait :

1. qu'un sérum peut neutraliser son Bactériophage et un autre ; alors que l'anti de ce dernier ne neutralise que son propre et non définitivement le 1er;
2. que l'anti d'un Bactériophage chauffé à 80°, ne neutralise que ce dernier et ne neutralise pas le principe total, alors que l'anti de ce dernier neutralise les deux Bactériophages;
3. que les anti des Bactériophages isolés par plages, neutralisent leur propre principe, sans nécesssairement neutraliser le Bactériophage total ou celui de certaines autres colonies, le Bactériophage total étant parfaitement neutralisé par l'antisérum total.

Louvain, 15 mai 1923.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ - DE LOUVAIN — DIRECTEUR : PROF. BRUYNOGHE.

L'influence des matières colorantes sur les cultures

par

H. DEPLA.

C'est à la suite d'une note publiée par BOTEZ (1) dans les comptes-rendus de la société de Biologie, que nous avons commencé les recherches relatives à l'influence exercée par les matières colorantes sur les diverses cultures.

Le travail se divise en trois chapitres : dans un premier, nous étudions l'influence du violet de méthyle sur la lyse microbienne transmissible ; dans un deuxième, nous examinons l'influence des matières colorantes en général sur les microbes, et quant à la façon de se comporter, nous aurons l'occasion de faire une distinction entre les Gram positifs et les Gram négatifs ; enfin dans un dernier chapitre, nous examinons sommairement l'influence utile que ces matières colorantes exercent éventuellement dans les cas d'infection, en d'autres mots : nous faisons avec les matières colorantes quelques essais de chimiothérapie.

CHAPITRE I.

Ci-dessous un passage de la communication de BOTEZ : « Le Bacille diphtérique est lysé en 24 heures, même en culture abondante, si on emploie une anse d'une solution alcoolique saturée de violet de méthyle pour 10 c. c. de culture en bouillon. Pour la Bactéridie charbonneuse, les conditions de la lyse sont les mêmes. Le Bacille dysentérique est lysé avec quelque retard, quelquefois après 48 heures. Quant au Bacillle pseudo-d'phtérique, il réduit après 24 heures, la première dose de violet de méthyle, et successivement la deuxième et la troisième dose ; mais, à partir de ce moment, il ne réduit plus le violet et finit par être lysé.

Si, dans une culture lysée, on prélève, à l'aide d'une pipette, 0,5 à 1 c. c. du liquide limpide surnageant, dans lequel on a constaté

l'absence de germe vivant, et si on introduit ce liquide dans un tube de bouillon ensemencé avec une bonne anse de culture en bouillon du même germe que le germe lysé, les germes ne poussent pas : ils sont lysés. On peut introduire, après 24 heures, une deuxième, puis, après encore 24 heures, une troisième anse, mais les résultats restent toujours négatifs par rapport aux ensemencements de contrôle en bouillon ordinaire. On peut puiser alors une certaine quantité de ce dernier tube à résultat négatif, et faire la série. Mais si on ensemence une plus grande quantité de germes, ceux-ci se développent.

Le violet de méthyle, à lui seul, n'est que le premier facteur déterminant de la bactériolyse. La bactériolyse en série n'est pas en fonction de traces de violet de méthyle, parce que les essais que j'ai faits avec des doses décroissantes de violet de méthyle m'ont donné des résultats négatifs : les germes poussent. »

L'auteur met ces résultats en connexion avec les observations relatives au phénomène de d'HÉRELLE ; il obtient en effet une bactériolyse en série, le violet de méthyle intervenant, comme il le prétend, comme le « primum movens » de la bactériolyse.

Ce fait méritait d'être contrôlé. En effet, s'il en était ainsi, il devenait du coup impossible d'attribuer la lyse transmissible des microbes à un virus bactériophage. Dans le but de nous faire une conviction personnelle à ce sujet, nous avons repris les expériences de BOTEZ, en nous conformant minutieusement à la technique indiquée dans sa communication.

A cet effet nous ajoutons à une culture de charbon, âgée de 24 heures, une anse d'une solution alcoolique saturée de violet de méthyle, et nous constatons qu'après 24 heures de séjour à l'étuve, la lyse est survenue, au point qu'à l'examen miscroscopique et même dans l'essai de culture, le liquide est dépourvu de germes vivants. Nous prenons de ce liquide quelques gouttes que nous introduisons, d'une part dans des cultures déjà développées, également âgées de 24 heures, d'autre part dans des tubes de bouillon que nous ensemençons avec le même germe, et nous observons que dans l'un tube la lyse se produit, et que dans l'autre le violet de méthyle, ou éventuellement le lysat de la culture, exerce une influence inhibitive sur le développement.

Si nous prélevons de ce deuxième tube lysé (et ici la lyse peut encore être complète, au point que le bouillon soit stérilisé) quelques gouttes, pour répéter la même expérience, dans certains cas la lyse se produit encore et l'action inhibitive se manifeste; dans d'autres la lyse et l'action inhibitive font défaut; dans l'essai ultérieur nous n'obtenons plus jamais ni lyse, ni action inhibitive.

Nous avons fait ces mêmes recherches sur d'autres germes, entre autre sur le Bacille de la diphtérie et sur un microbe ressemblant au Bacille Megatherium, microbe que nous indiquons par « Willems »,

et nous avons obtenu dans les premiers tubes une lyse et une action inhibitive, mais dans les dilutions ou les repiquages ultérieurs l'absence de la lyse et l'absense d'action inhibitive. Ces deux derniers microbes étaient moins bien influencés par le violet de méthyle tant au point de vue de la lyse, qu'au point de vue de leur développement, que la culture de la Bactéridie du charbon.

D'après ces résultats, le violet de méthyle est capable de produire la lyse, mais elle ne provoque pas cette lyse en série, et celle-ci n'est donc pas à identifier avec le phénomène, observé par d'HÉRELLE et par d'autres.

Nous avons alors examiné de plus près le mécanisme de cette lyse et de cette action inhibitive, dans la but d'élucider si les phénomènes observés résultent uniquement de l'action de la matière colorante, ou si éventuellement les produits microbiens lysés interviennent également. A cet effet, nous faisons des doubles séries d'expériences.

A) *Lyse par le violet de méthyle.* — Nous ajoutons à des cultures âgées de 24 heures : d'une part, 0,5 c. c. du lysat d'une culture du même germe, lyse opérée par une anse de la solution alcoolique saturée de violet de méthyle ; d'autre part, 0,5 c. c. d'un tube de bouillon additionné d'une anse de la même solution alcoolique saturée de violet de méthyle.

Puis le lendemain, nous continuons ainsi la série, en ajoutant donc d'un côté 0,5 cc du lysat de culture et de l'autre côté 0,5 cc de la solution alcoolique saturée de violet de méthyle, diluée progressivement dans du bouillon.

Ces recherches établissent qu'au point de vue de la lyse, il n'y a pas de différence dans les deux séries en question, et nous pouvons en conséquence en conclure que la lyse est opérée uniquement par le violet de méthyle, et que le lysat des microbes n'intervient pas dans le phénomène.

Ci-dessous quelques résultats :

	B. Charbon	B. Diphtérie	B. Willems
Lyse opérée par le lysat d'une culture des mêmes germes en dilutions progressives, lysat obtenu par l'action du violet de méthyle.	jusqu'à la 3me dilution	jusqu'à la 2me dilution	jusqu'à la 2me dilution
Lyse opérée par des dilutions progressives de violet de méthyle.	id.	id.	id.

B) *Quant à l'action inhibitive* sur le développement, nous avons pu constater qu'elle se comporte de même ; que l'inhibition est opérée exclusivement par le violet de méthyle, et que le lysat des microbes n'y joue aucun rôle.

Ci-dessous les expériences établissant ce fait :

d'un côté, des dilutions progressivement décroissantes de violet de méthyle, dans du bouillon ;

de l'autre côté, des quantités correspondantes de violet de méthyle, ayant opéré dans des tubes la lyse des microbes sur lesquels nous expérimentons ;

ces tubes sont alors ensemencés avec le microbe et placés à l'étuve durant 24 à 48 heures.

Comme on peut le constater dans le tableau, au point de vue de l'inhibition, ces deux séries d'expériences, tant pour le Bacille du charbon que pour les autres microbes, ont fourni des résultats tout-à-fait correspondants.

	B. Charbon	B. Willems	B. Diphtérie
Action inhibitive du violet de méthyle — dilutions progressives du lysat de cultures des mêmes germes, lysat obtenu sous l'influence du violet de méthyle.	jusqu'à la 4me dilution	jusqu'à la 3me dilution	jusqu'à la 3me dilution
Action inhibitive du violet de méthyle — dilutions progressives de ce colorant dans le bouillon.	id.	id.	id.

Nous avons également contrôlé l'influence du violet de méthyle sur les cultures du Bacille de la dysenterie. Ce microbe, comme de nombreuses recherches l'ont établi, est particulièrement apte à subir la lyse transmissible. D'après Botez, comme nous l'avons indiqué dans notre introduction, ce bacille ne se lyse sous l'influence du violet de méthyle qu'avec un retard : d'après l'auteur, cette lyse était également transmissible en série, comme dans le phénomène de d'Hérelle.

Nous avons constaté que de fait le Bacille de la dysenterie se comporte tout autrement que le bacille du charbon, et qu'il faut ajouter une quantité telle de violet de méthyle pour obtenir la lyse ou éventuellement l'inhibition sur le développement de ce germe, qu'on a difficile de juger du résultat à cause de la coloration intense du milieu de culture par cette addition de violet de méthyle.

Pas plus que dans les essais précédents, nous n'avons pu transmettre cette lyse en série.

En répétant ces expériences sur d'autres microbes, et notamment sur le Colibacille de d'Hérelle, et sur le Bacille *Proteus*, nous avons constaté que ces microbes ne subissaient nullement l'action du violet de méthyle.

Etant donné que ces derniers germes étaient des microbes Gram négatifs, et que les premiers germes utilisés étaient Gram positifs, nous nous sommes demandé si éventuellement ces deux espèces de germes se comportent différemment vis-à-vis de cette matière colorante.

Ce sont ces recherches qui forment l'objet de notre deuxième chapitre.

CHAPITRE II.

A ce sujet nous rappelons que EISENBERG, (2) dans des communications faites dans le « Centralblatt für Bakteriologie », a établi que les germes Gram positifs et Gram négatifs se comportent différemment vis-à-vis des matières colorantes de l'aniline, en ce sens que les Gram posititifs sont beaucoup plus sensibles à leur action microbicide que les Gram négatifs ; d'après ses recherches, cette différence varie de 3 à 10.000. CHUCHMANN, (3) a également constaté cette différence dans la sensibilité des germes vis-à-vis du violet de Gentiane, et il a préconisé l'emploi de semblables réactifs pour isoler les microbes Gram négatifs, ces derniers supportant ce produit à des concentrations, qui sont toujours microbicides pour les germes Gram positifs. Il a en outre observé que les germes Gram positifs ne peuvent pas s'habituer à l'action de cette matière colorante, alors que les germes Gram négatifs peuvent acquérir, par adaptation, une résistance encore plus élevée que celle qu'ils possèdent déjà normalement : parmi ces derniers, d'après ces recherches, tous les germes ne résistent pas également bien au violet de Gentiane : on peut isoler d'une culture quelques éléments plus résistants que le reste de la culture et, chose étrange, cette culture devenue parfaitement résistante, ne se développe dans ce milieu additionné d'une forte concentration de violet de Gentiane que pour autant que par l'ensemencement, on ait introduit dans le milieu en question un certain nombre de germes, au minimum une trentaine. Il en résulte que cette résistance spéciale ne serait en réalité pas la propriété de chaque élément microbien, mais d'une certaine collectivité.

Pour terminer ces renseignements, ajoutons encore que FRIED-

RICH BREINL, (4) a aussi constaté une différence entre les microbes Gram positifs et les microbes Gram négatifs au point de vue de leur résistance vis-à-vis des halogènes, les Gram positifs étant de nouveau plus aisément détruits que les Gram négatifs.

De notre côté nous avons entrepris l'étude de l'action inhibitive et de l'action lytique du violet de méthyle, d'un côté sur une série de microbes Gram positifs, d'un autre côté sur une série de microbes Gram négatifs ; nous avons ensuite étudié l'action de différents autres colorants et notamment du violet de Gentiane, de la Fuchsine basique, du bleu de méthylène, du vert de méthyle et du vert de malachite.

Afin d'avoir plus de précision dans nos résultats, au lieu d'ajouter un certain nombre de gouttes du colorant plus ou moins dilué, nous avons ajouté des quantités mesurées de ce dernier, resp. 1/50, 1/500, 1/5.000, 1/50.000, et même 1/500.000 de c. c. de la solution alcoolique saturée.

Nous donnons ci-dessous deux tableaux schématiques, indiquant pour chacune de ces substances colorantes la dose limite de l'action lytique et de l'action inhibitive ; nous nous sommes arrêté à la dose de 1/50 c. c. ; si donc nous indiquons que l'action du colorant est « nulle », cela signifie que cette action est telle à la dose de 1/50 c. c. de la solution alcoolique saturée de colorant.

ACTION LYTIQUE.

	Vert de méthyle	Violet de gentiane	Fuchsine basique	Bleu de méthylène	Vert de méthyle	Vert de malachite
B. Charbon	1/5.000	1/5.000	1/500	1/50	1/50	1/50
B. Willems	1/500	1/5.000		nulle		
B. Subtilis	1/500					
Staphylocoque doré	1/500					
Entérocoque	nulle					
Colibacille	nulle	nulle	nulle	nulle		
B. Proteus	nulle	nulle	nulle	nulle		
B. Pyocyaneus	nulle					

ACTION INHIBITIVE.

	Violet de méthyle	Violet de gentiane	Fuchsine basique	Bleu de méthylène	Vert de méthyle	Vert de malachite
B. Charbon	1/50.000	1/5.000	1/5.000	1/50	1/500	1/50
B. Willems	1/50.000	1/5.000	1/500	1/50	1/50	1/500
B. Subtilis	1/5.000					
Staphylocoque doré	1/500			nulle	nulle	1/50
Staphylocoque furonculose	1/50.000	1/5000				
Staphylocoque blanc	1/50.000	1/5.000				
Streptocoque	1/5.000	1/5.000		1/500	1/500	1/500
B. de la Seborrhée grasse				1/50	1/50	1/50
Entérocoque	1/50					
B. Colibacille	nulle	1/50		nulle		
B. Proteus	1/5.000	1/50	nulle	nulle		
B. Flexner	1/500	1/50				
B. du choléra des poules	1/5 000	1/500		1/50	1/50	1/50
B. de l'avortement des équidés				nulle	nulle	nulle
B. Pyocyaneus	nulle					

De ces expériences se dégage nettement la conclusion, que les microbes Gram positifs sont, d'une manière générale, beaucoup mieux influencés par les matières colorantes que les microbes Gram négatifs ; plusieurs de ces derniers (avant tout le Colibacille et le Bacillus *proteus*) témoignent d'une résistance quasi absolue vis-

à-vis de ces produits, tandis que d'autres semblent moins réfractaires ; ainsi le Bacille de la dysenterie Flexner et le Bacille du choléra des Poules paraissent plus ou moins sensibles ; mais cela peut éventuellement tenir à la fragilité relative de ces cultures. Quant aux microbes Gram positifs, le Bacille du charbon est certainement doué d'une réceptivité spéciale vis-à-vis des matières colorantes ; de même les Bacilles Willems et Subtilis sont bien influencés ; quant aux coques, nous remarquons une différence entre l'action lytique et l'action inhibitive du violet de méthyle, l'inhibition s'exerçant à des dilutions considérables, tandis que la lyse se fait moins bien.

Nos résultats concordent donc parfaitement avec les données d'EISENBERG (2) et de CHURCHMAN (3) en ce que concerne l'action inhibitive du violet de Gentiane ; ils diffèrent légèrement de ceux de BRIDRÉ (5) quant à l'action du bleu de méthylène, ce dernier auteur ayant constaté une action mieux accusée de ce colorant.

Les microbes Gram positifs sont donc bien mieux influencés par les matières colorantes que les microbes Gram négatifs.

Ce fait est si net, que nous avons utilisé pour leur isolement éventuel la propriété qu'ont les microbes Gram négatifs de résister à l'action de ces matières colorantes. De fait nous avons constaté que, quand nous mélangeons une culture Gram positive avec une culture Gram négative, il suffit de repiquer 2 ou 3 fois sur des milieux additionnés de matière colorante, pour éliminer les Gram positifs et avoir la culture pure des Gram négatifs.

Nous avons fait notammant ces essais avec les mélanges suivants :

Staphylocoque — B. Enteritidis ;
Streptocoque — B. de la dysentérie Shiga ;
Un B. aérobie Gram positif — B. de l'avortement des équidés ;
B. du charbon — B. *proteus*.

Après 1 ou 2 repiquages en bouillon additionné de 1/500 cc de la solution alcoolique saturée de la matière colorante, cette dernière culture repiquée en strie sur gélose inclinée, nous a donné des cultures pures de microbes Gram négatifs.

Afin d'établir que cette influence, tant lytique qu'inhibitive, est l'œuvre des matières colorantes, et non celle de l'alcool, nous avons répété ces essais avec de l'alcool sans matière colorante : l'alcool aux doses de 1/25e et 1/250e c. c. n'exerce aucune action sur la culture la plus réceptive à l'influence des matières colorantes, notamment celle du charbon.

D'ailleurs il était à prévoir que cette minime quantité d'alcool ne pouvait pas être le facteur de l'inhibition et de la lyse des microbes.

Pour terminer, nous avons voulu voir, si les microbes Gram positifs et les microbes Gram négatifs présentent encore la même différence dans leur sensibilité vis-à-vis d'autres produits, et nous avons expérimenté avec l'iodure de Potassium ; nous n'avons pas trouvé de différence évidente entre les microbes utilisés, certains microbes Gram positifs et Gram négatifs étant inhibés dans leur développement par les fortes concentrations, les autres ne l'étant pas.

CHAPITRE III.

Etant donné que les microbes Gram positifs subissent d'une manière élective une inhibition dans leur développement, et que, une fois développés, ils subissent la lyse, un essai de chimiothérapie dans les affections produites par ces microbes, semblait une tentative assez rationnelle.

Nous avons fait des essais avec le Bacille du charbon et avec le Bacille du rouget. A cet effet, nous injectons au même moment des quantités variables de la solution alcoolique saturée de violet de méthyle, et de la culture, soit de charbon, soit du rouget ; un animal témoin est injecté uniquement avec de la culture. Les expériences avec le Bacille du Rouget ont été faites sur des souris ; celles avec le Bacille du charbon, sur des souris et des cobayes.

1) Expériences avec le bacille du rouget.

Nous injectons à des souris 1/4 c. c. de la culture, et nous leur inoculons, à l'exclusion d'animaux-contrôles, une quantité de matière colorante, variant de 0,1 cc au 1/100 à 0,5 cc au 1/50 ; les animaux-témoins meurent le 4e jour ; les autres du 3e au 5e jour.

2) Expériences avec le bacille du charbon.

A) *Sur souris.*

Les inoculations se font d'après le même procédé et sensiblement aux mêmes doses ; les animaux-témoins meurent les premiers jours, un survit ; les autres succombent du 1er au 5me jour, un seul survit.

B) *Sur cobayes.*

Les inoculations se font d'après le même procédé ; l'animal-témoin meurt le 3e jour ; parmi les autres, un cobaye meurt également le 3e jour, un autre survit.

De ces expériences il résulte que l'action du violet de méthyle

est nulle. Nous faisons remarquer que, si un des animaux inoculés avec le B. du charbon et le violet de méthyle a survécu, nous ne voulons pas attribuer ce fait à l'action du violet de méthyle, étant donné qu'un des animaux-contrôles a également résisté à cette inoculation. La culture de charbon, employée pour ces expériences, était d'ailleurs relativement peu virulente ; et il se peut aussi que chez ces animaux l'inoculation ait été faite de telle façon qu'il n'y ait pas eu de contamination du derme. Les expériences de BESREDKA (6) confirmées par BALTEANO, (7) ont établi que le B. du charbon n'est pathogène chez les animaux que pour autant qu'il y ait eu, au moment de l'inoculation, contamination du derme.

Cette absence d'action du violet de méthyle peut éventuellement s'expliquer par le fait que la matière colorante a autant d'affinité pour les cellules que pour la culture charbonneuse ou pour la culture du rouget ; et que de ce fait ce produit est rapidement fixé sur les tissus et les bacilles échappent complètement à son action.

Il en est de même du violet de Gentiane ; les animaux inoculés avec de la culture du charbon et de cette matière colorante, ne sont pas arrivés à résister à ces inoculations.

Pour terminer cette série d'expériences, nous ajouterons encore que le violet de méthyle injecté préventivement, s'est montré dépourvu de toute activité contre une infection consécutive, soit par le Bacille du charbon, soit par le Bacille du rouget.

A cet effet, nous injectons à des souris du violet de méthyle à des doses variant de 0,1 cc à 1 cc au 1/100 ; 2 jours après, nous leur inoculons, ainsi qu'à des animaux-témoins, 0,2 c. c. de culture, soit du Bacille du Rouget, soit du Bacille du charbon. Pour les expériences concernant le Bacille du rouget : l'animal-témoin meurt le 4[e] jour, l'autre le 2[e] jour ; pour le Bacille du charbon, l'animal-témoin survit ; parmi les autres, une souris succombe le 5[e] jour, une autre survit.

Dans ces essais, la survie de 2 animaux ne permet nullement de conclure à l'action du violet de méthyle, étant donné que nous constatons une survie chez l'animal témoin, et chez un animal injecté préventivement de violet de méthyle.

Ce résultat est vraisemblablement à attribuer à une inoculation exclusivement sous-cutanée de la culture, sans contamination du derme. Nous croyons pouvoir attribuer ce résultat plutôt à ce fait qu'au manque de virulence du microbe, étant donné que dans un autre essai, pratiqué avec la même culture, un animal injecté avec 1/1000 cc de celle-ci, est mort le 5[e] jour.

CONCLUSIONS.

Les expériences détaillées dans notre mémoire établissent que:

1) Le violet de méthyle peut effectivement opérer la lyse des cultures B. du charbon, et exercer une action inhibitive dans leur dévelloppement, conformément à la communication de BOTEZ ;

2) Contrairement à l'affirmation de ce dernier, ni la lyse ni l'action inhibitive n'est transmissable en série ; elle est exclusivement l'œuvre du violet de méthyle, et de ce fait nullement à rapprocher du phénomène de d'Hérelle ;

3) Cette lyse et cette inhibition sous l'action du violet de méthyle résulte de la réceptivité spéciale que présentent vis-à-vis de cette matière colorante, les microbes Gram positifs ; en effet, différents auteurs avaient déjà établi que les microbes Gram positifs et des microbes Gram négatifs se comportent différemment vis-à-vis du violet de Gentiane ;

4) Ces deux espèces de germes présentent la même différence au point de vue de la sensibilité vis-vis-à d'autres matières colorantes, notamment la fuchsine basique, le bleu de méthyléne, le vert de méthyle et le vert de malachite ;

5) Cette propriété peut éventuellement être utilisée pour faciliter l'isolement en culture pure des microbes Gram négatifs ;

6) Les essais de chimiothérapie avec les matières colorantes, n'ont donné que des insuccès ; ces résultats peuvent s'expliquer par la fixation éventuelle de celles-ci sur les cellules.

BIBLIOGRAPHIE.

1) A. Botez : La Bactériolyse en série par le violet de méthyle. C. R. de la Soc. Biol. 1921, page 585.

2) Eisenberg : Centralblatt für Bakteriologie. Vol. 71, page 420 et Vol. 82, p. 69.

3) Dr John W. Churchman : Les couleurs d'aniline en thérapeutique (The Journal of the American medical association, Chicago II-XI-22) cité dans le Scalpel du 27 janv. 1923.

The cause of the parallelism between the Gram reaction and the Gentian violet reaction (Proceeding of the Society for experimental Biology T. XVIII 13 Oct. 1923, p. 17).

The isolation of Gentian positive individuals from a suspension of Gentian negative organisms (B. Coli) (ibidem p. 19). (Bull. de l'Instit. Pasteur, 15 mars 1921).

Relation of the Gentian violet reaction to dilution of implanted suspension.

The effect of repeated re-inoculation of Gentian violet with Gentian positive organisms.

The selective action of Gentian violet in relation to chimiotherapy.

The communal activity of Bacteria. (Proceedings of the Society for experimental Biology and Medecine T. XVIII, 13 Oct. 1920, p. 20-22) (Bull. Inst. Pasteur, 15 mars 21).

4) Fr. Breiné : Ueber das Verhalten der Gram positiven und Gram negativen Bakterien zu den Halogenen (Zeitschrift für Immunitätsforschungen, Vol. 29, p. 343).

5) J. Bridré : Sur le pouvoir antiseptique (antigénétique) de quelques couleurs d'aniline (C. R. Soc. de Biol. T. LXXXV; 15 oct. 1921, p. 645.

6) Besredka : Bull. Inst. Pasteur 1921, p. 421.

7) Balteano : C. R. Soc. de Biol., 22 juillet 1922.

Louvain, 15 mai 1923.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.
DIRECTEUR : PROF. R. BRUYNOGHE.

Contribution à l'étude de l'antigène du staphylocoque

PAR

P. BRUTSAERT.

Au point de vue de la vaccinothérapie, la question de l'unicité ou de la pluralité des souches du Staphylocoque est de première importance. En effet, s'il est établi que les Staphylocoques peuvent individualiser leurs représentants au point de former des variétés distinctes entre elles, la vaccinothérapie doit se faire soit avec des auto-vaccins, soit avec des stock-vaccins polyvalents. Si par contre, cette individualisation ne se présente pas, n'importe quel stock-vaccin peut suffire dans le traitement des affections staphylococciques récidivantes.

Notons à ce sujet, que KOLLE et OTTO (1) ont établi que l'essai d'agglutination permet de différencier les Staphylocoques pathogènes des variétés saprophytes, les premiers étant spécifiquement agglutinés par le sérum d'animaux vaccinés avec le Staphylocoque pyogène, les secondes ne subissant dans ces conditions aucune agglutination. D'après ce travail, les variétés pathogènes forment un groupe assez homogène, puisque toutes ces souches, à de rares exceptions près, sont agglutinées par un sérum spécifique monovalent. Il n'en est pas de même des Staphylocoques saprophytes, dont l'individualité des souches est telle que leur identification par ce procédé est impossible.

Cette question méritait d'être reprise, étant donné que les résultats de la vaccinothérapie ne s'accordaient qu'imparfaitement avec ces données, les auto-vaccins donnant d'une manière générale de meilleurs résultats que les stock-vaccins.

Afin de contrôler la pluralité éventuelle des souches du Staphylocoque pyogène, nous avons vacciné un certain nombre de lapins avec des cultures tuées (chauffées à 56° pendant une heure) et examiné l'activité agglutinante de ces sérums monovalents pour un certain nombre de souches de ce microbe.

---

(1) KOLLE et OTTO. *Zeitschr. f. Hyg.* Vol. 41, 1902.

Ces essais nous ont démontré que les Staphylocoques pathogènes peuvent individualiser leurs souches au point que certaines d'entre elles, parfaitement agglutinées par leur propre sérum, ne sont que peu ou pas influencées par un sérum monovalent d'une autre provenance (animal vacciné avec une autre souche).

Il ne nous est pas possible de donner ici les résultats de ces essais d'agglutination avec tous les détails ; nous devons nous contenter de transcrire quelques protocoles d'expériences.

Le tableau I montre jusqu'à quel point des Staphylocoques pathogènes peuvent être différents au point de vue biologique. Cette diversité est d'autant plus intéressante à signaler que toutes les souches utilisées dans l'essai en question étaient des variétés dorées, isolées du pus de furoncle. Ajoutons que cette spécificité n'en persiste pas moins, quand les sérums deviennent plus actifs.

TABLEAU I. — Sérum de lapin ayant subi 19 injections d'un demi cm³ d'une émulsion concentrée du Staphylocoque doré isolé de furoncle.

Sérum doré 1	1/10	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	Contrôle
Staph. doré	++	++	++	+±	+	+	±	?	O
» fur. 22	±	O	O	O	O	O	O	O	O
» fur Ny	+	±	O	O	O	O	O	O	O
» fur Kie	?	O	O	O	O	O	O	O	O
» fur 12	+	?	O	O	O	O	O	O	O
» fur mi	?	O	O	O	O	O	O	O	O
» fur 15	+	±	±	O	O	O	O	O	O

Il ne faut cependant pas en conclure que toutes les souches sont nécessairement aussi différentes que le premier tableau ne veuille l'indiquer. Un autre sérum anti-doré influence plus ou moins certaines autres souches d'après leur degré de parenté.

Ci dessous un exemple :

TABLEAU II. — Sérum de lapin ayant reçu 28 injections d'un ½ cent. cube d'une émulsion du Staph. doré.

Sérum doré 2	1/10	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/600	Contrôle
Staph. doré	++	++	++	++	++	++	++	+	O
» fur. 22	++	++	++	++	?	?	O	O	O
» fur Ny	++	++	+	?	O	O	O	O	O
» fur Mi	+	+	?	O	O	O	O	O	O
» Her	O	O	O	O	O	O	O	O	O
» fur Kie	++	++	?	?	O	O	O	O	O
» Ma	+	+	O	O	O	O	O	O	O
» fur 15	++	++	+	?	O	O	O	O	O

Ajoutons que le sérum de deux autres lapins, vaccinés avec cette même souche de Staphylocoques, agglutinait sensiblement de même les variétés utilisées dans les essais précédents, ce qui nous permet d'exclure le facteur animal dans les résultats obtenus.

Le sérum d'un animal vacciné avec la souche fur. 22 montrait beaucoup moins de spécificité.

Tableau III. — Sérum furoncle 22 (lapin vacciné par 25 injections d'un demi centimètre cube d'une émulsion concentrée du Staphylocoque furoncle 22).

Serum fur 22	1/10	1/25	/1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	Contrôle
Staph. fur. 22	++	++	++	++	⊥	?	O	O	O
» doré	++	++	++	++	++	++	?	O	O
» fur. Ny	++	+	±	O	O	O	O	O	O
» fur Ph.	++	++	++	+⊥	⊥	O	O	O	O
» Ma	+±	++	++	+⊥	+	?	O	O	O
» fur. Ch.	+±	+⊥	+⊥	+⊥	+	⊥	O	O	O
» fur. 12	++	++	+	⊥	(⊥)	?	O	O	O
» fur. 15	+	+⊥	+	+	⊥	O	O	O	O
» Cr.	O	O	O	O	O	O	O	O	O

Comme le tableau l'indique, toutes les souches (sauf la variété Cr. Staphylocoque blanc isolé d'expectorations) sont nettement agglutinées par le sérum envisagé. Il est même à remarquer que la culture Staphylocoque doré est mieux influencée par l'agglutinine antifur. 22, que la variété qui a servi à sa préparation. Ce résultat doit son explication à l'agglutinabilité plus accusée de cette variété doré comparativement à celle du fur. 22.

Ce fait est encore beaucoup plus évident avec l'agglutinine fournie par un animal vacciné avec la souche Ny. Celle-ci n'était à vrai dire pas agglutinée par son sérum, alors que le Staphylocoque doré l'était encore nettement à la dilution 1/200.

Quant au sérum agglutinant préparé avec un Staphylocoque blanc saprophyte, il n'était que faiblement actif pour la souche utilisée à sa préparation, malgré que l'animal en eut reçu une quinzaine d'injections ; il n'influençait pas les autres Staphylocoques, ni les variétés pathogènes ni les variétés saprophytes .

Pour terminer cette question, nous ajoutons que les résultats fournis par l'essai de la déviation de l'alexine, concordaient sensiblement avec ceux obtenus dans les expériences d'agglutination, sauf que la spécificité des souches était manifestement moins marquée dans cette épreuve que dans celle de l'agglutination. NICOLLE et DEBAINS (1) ont signalé antérieurement la moindre spécificité de cette méthode d'identification.

De l'ensemble des recherches exposées ci-dessus, il résulte que les souches de Staphylocoques peuvent suivant les cas présenter une parenté plus ou moins accusée ou différer entre elles au point de se comporter comme des variétés biologiques distinctes. Il faut donc admettre que l'antigène du Staphylocoque est des plus complexes. Si l'on compare une série de souches, la plupart d'entres elles peuvent avoir de l'antigène commun et de l'antigène spécifique. Il nous a paru intéressant d'examiner de plus près comment ces deux antigènes se comportent vis-à-vis de l'action de la chaleur.

Rappelons à ce sujet, que les travaux de l'école de BAIL (2) ont établi que les microbes du groupe *Proteus*, *Typhus* et *Paratyphus* peuvent contenir deux espèces d'antigène, l'un thermolabile, l'autre thermostabile. A chacun de ceux-ci correspond une agglutinine ; le premier fournit par immunisation des anticorps agglutinant l'émulsion microbienne en grosses masses ; au second correspond une agglutinine produisant de fins conglomérats. Chez les microbes du groupe *Proteus*, l'antigène thermolabile est commun aux diverses souches, tandis que l'antigène thermostabile leur est spécifique. Chez les Bacilles typhiques et paratyphiques c'est l'inverse ; chez eux l'antigène thermostabile est commun et l'antigène thermolabile est spécifique. Nous avons examiné à ce point de vue l'antigène des cultures staphylococciques.

A cet effet nous chauffons au bain-marie à 100° durant une heure, des émulsions de ces cultures et dans des essais appropriés nous examinons leur agglutinabilité et leur valeur antigénique.

Au point de vue de l'agglutinabilité, nous ne constatons pas de différence entre les émulsions fraîches et celles chauffées à 100°, sauf que peut être les dernières subissent un peu plus rapidement l'agglutination que les précédentes.

En ce qui concerne la forme des conglomérats, elle n'est pas modifiée du fait du chauffage des émulsions. Pour certains sérums, dans les premiers tubes, et pour tous, dans les dernières dilutions,

---

(1) NICOLLE et DEBAINS. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1920.

(2) WEIL et FELIX. — *Wien Klin. Wochensch.*, 1917, *Zeitschr. f. Immunitätsf.* Vol. XXI et Vol. XXIX.

FÜRTH. — *Zeitschr. für Immunitätsf.* Vol. XXXV.

BREINL et FISCHER. — *Zeitschr. für Immunitätsf.* Vol. XXXV.

GRUSCHKA. — *Zeitschr. f. Immunitätsf.* Vol. XXXV.

nous obtenons de petites masses tandis que dans les tubes où l'agglutination est la plus nette, nous observons de gros grumeaux et cela aussi bien dans les essais avec les cultures chauffées que dans ceux avec microbes non chauffés. La spécificité était aussi accusée dans ces essais que dans les épreuves avec germes non chauffés. Ces résultats semblent indiquer que l'antigène des Staphylocoques est complètement thermostabile.

Toutefois, quand on examine la valeur antigénique de ces émulsions chauffées, pour certaines souches il y a lieu d'admettre, à côté de cet antigène thermostabile, des quantités variables d'antigène thermolabile. Comme nous l'avons indiqué précédemment, nos cultures staphylococciques dorées, injectées aux animaux, nous avaient donné des sérums influençant plus ou moins certaines autres cultures staphylococciques. Ces mêmes émulsions chauffées à 100° et inoculées à un lapin nous ont fourni une agglutinine beaucoup plus spécifique et n'influençant pour ainsi dire plus les souches agglutinées par les sérums fournis par les animaux vaccinés, avec la même culture non chauffée.

Les tableaux IV et V établissent ce fait très nettement.

TABLEAU IV. — Sérum lapin blanc vacciné avec une émulsion de Staphylocoque doré tuée par chauffage à 56°.

Sérum lapin blanc	1/10	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	Contrôle
Doré	++	++	++	++	++	++	O	O
Fur 22	+	+	+	+	±	?	O	O
fur. Mi	+	+	?	O	O	O	O	O
fur. Ny	+	+	?	O	O	O	O	O

TABLEAU V. — Sérum lapin roux, injecté avec la même émulsion de Staphylocoque doré chauffée à 100° pendant une heure.

Sérum lapin roux	1/10	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	Contrôle
Doré	++	++	++	+	+	±	?	O
Fur 22	++	±	O	O	O	O	O	O
Fur mi	?	O	O	O	O	O	O	O
Fur Ny	±	O	O	O	O	O	O	O

Enfin de nous assurer qu'en l'occurence il ne s'agit pas d'un résultat fortuit, nous avons injecté un autre animal avec cette même émulsion chauffée à 100° ; nous avons de même obtenu un sérum particulièrement spécifique. Par contre, le sérum provenant d'un animal vacciné avec une culture fur. 22 chauffée à 100°, n'était pas plus spécifique que celui obtenu par injection d'émulsions microbiennes non portées à cette haute température.

Il en résulte qu'il n'y a pas lieu de considérer l'antigène commun comme plus labile et l'antigène spécial comme plus stabile ; les expériences mentionnées ci-dessus nous montrent que les propriétés de cet antigène peuvent varier d'une souche à l'autre, l'antigène commun étant tantôt labile, tantôt stabile.

Pour terminer nous ajoutons encore que la valeur antigénique considérée dans son ensemble ne semblait guère diminuée du fait du chauffage, étant donné que les sérums obtenus par vaccination avec microbes chauffées à 100° étaient, à peu de chose près, aussi actifs que ceux obtenus par inoculation d'émulsions simplement tuées par chauffage à 56°.

CONCLUSIONS.

1. De nos recherches il résulte, que les cultures staphylococciques, tout en présentant quelquefois une certaine parenté entre elles, peuvent se différencier au point de constituer des variétés biologiques distinctes. Ce fait mérite d'être pris en considération dans la pratique de la vaccinothérapie.

2. L'antigène du Staphylocoque est essentiellement thermostabile. Quelques-uns de nos résultats cependant semblent indiquer que certaines variétés peuvent contenir aussi de l'antigène thermolabile.

DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY. UNIVERSITY COLLEGE, LONDON.

The action of blood on isolated tissues

by

A. J. CLARK AND LOUIS GROSS*
(Beit Memorial Research Fellow)

The following investigations were undertaken with a view to obtaining information regarding the substances present in fresh blood wich produce a pharmacological action upon isolated tissues.

Experiments were made with fresh unclotted arterial blood, and with alcoholic extracts of arterial blood. In addition control experiments were made with various sera.

The isolated organs used were the perfused rabbit's ear, the intestine and uterus of the rat, the frogs heart, and a few experiments also were made with the rabbit's intestine and the guinea pig's uterus.

The action of blood extracts and sera on blood vessels.

A very large amount of research has been devoted to the vaso constrictor action of blood and sera. A full summary of this literature is given in the paper by JANEWAY, RICHARDSON and PARK (1). These writers showed that previous workers had obtained extraordinarily divergent results regarding the properties of the vasoconstrictor substance in serum. They themselves worked with perfused frogs and with strips of ox carotid and came to the following conclusions: no vacoconstrictor is present in circulating blood, but it developes rapidly when the blood is shed; some is present in hirudin plasma; more occurs in citrate and oxalate plasma, whilst maximal amounts occur in serum and in defibrinated blood.

(*) (Aided by Grants from the British Medical Association, Medical Research Council and Royal Society).

They found that an extract of blood platelets yielded a very powerful vasoconstrictor substance, which was thermostable, dialysed freely, was freely soluble in alcohol, and moderately soluble in chloroform and in ether.

They concluded that the break down of platelets released in the shed blood a substance with the propreties outlined above. These conclusions agree with a large proportion of the previous work done on this subject.

One of us found (2) that, in the perfused frog and with the perfused rabbit's ear, serum and serum proteins produced vasoconstriction, but that alcoholic extracts of serum tended to produce vasodilation. We now find that these results were due to various defects in the technique then employed. The serum used was ox serum which has only feeble vasoconstrictor properties, and the alcoholic extracts were evaporated at too high a temperature which led to destruction of much of the active substance. The substances were tested by perfusing the tissues alternately with Ringer and with dilute solutions of the fluid to be tested. This method is inaccurate because of the tendency of proteins tobe adsorbed on the capillaries and thus produce an irreversible vasoconstrictor effect. The vasoconstrictor action of serum proteins which was observed appears to have been largely of this nature. The apparent vasodilator action of the alcoholic extract was undoubtedly due to an increase in the number of drops due to lowering of surface tension. In the present experiments all substances were tested by the usual method of injecting the substance dissolved in one cc. of Ringer into the perfusion tube.

Comparative experiments with the perfused frog (Trendelenburg's method) and the perfused rabbit's ear (Bissemski's method) led us to the conclusion that the latter was much the more sensitive and more reliable method.

The sensitivity of different ears varied, but by measuring the effect produced by various concentrations of adrenalin in each ear it was possible to find out approximately what concentration of adrenalin produced the same vasoconstriction as did the sera, etc., which were tested, and thus the vasoconstrictor effect could be expressed by a common standard.

An example of the results obtained is shown below

TABLE I.

RABBIT'S EAR PERFUSED AT A PRESSURE OF 33 CM. RINGER.

Substance tested	Flow in drops per minute before injection	Flow in drops per minute during maximal effect	Percentage of reduction
Adrenalin 1 in 10 M.	38	4	90
Adrenalin 1 in 100 M.	38	36	5
Rabbit serum 4 %.	38	8	79
Rabbit serum 1 %.	34	18	57
Alcohol extract of rabbit serum diluted to correspond to 4 % of the original serum .	36	22	39
Adrenalin 1 in 20 M.	36	6	83
Alcohol extract of rabbits blood diluted to correspond to 4 % of original blood.	36	26	28
Ditto 20 %	38	4	90
Adrenalin 1 in 10 M.	30	flow arrested	100

Table 1 shows that the relative vasoconstrictor activities of rabbit serum, of alcoholic extract of rabbit serum, and of alcoholic extract of rabbit blood are roughly as 10 is to 3 is to 2, and that the activity of the serum undiluted would correspond to the action of an adrenalin solution of 2 per million.

A series of experiments similar to those shown in table 1 enabled us to make a rough comparision between the vasoconstrictor activities

of the sera, sera extracts and blood extracts of various species. These results are shown in table I I.

TABLE II.

The vaso constrictor activities of various sera, extracts of sera, and blood extracts. The figures represent the parts per million of adrenalin which would produce an action similar to that of the undiluted serum ar blood.

The action of the extracts is calculated for the volume of serum or blood from which they were prepared.

Species	Serum	Alcoholic extract of serum	Alcohol insoluble fraction of serum	Alcoholic extract of blood
Horse	0.1 — nil	0.1	0.2	—
Ox	0.2 — 1	0.2	0.2	—
Rat.	0.7 — 2	0.5	0.1	0.1 — 0.5
Rabbit . . .	2 — 12	1.3	0.1	0.25 — 1.0

The figures shown in table I I explain many of the discordant results obtained by different workers. The vaso constrictor action of the various sera examined varies enormously, and the alcohol soluble extracts made from these sera show similar variations. The alcohol insoluble fraction of the serum has a feeble vasoconstrictor action, and this action is approximately the same in all cases. In the case of the horse or the ox the alcohol insoluble fraction may have a greater vasoconstrictor action than the alcohol soluble fraction, but in the case of the rat or the rabbit the vasoconstrictor action of the alcohol insoluble fraction is insignifiant compared with the action of the alcohol soluble fraction. The vasoconstrictor action of the alcohol extract of fresh blood is of interest on account of the recent work of FREUND (3). This worker obtained alcoholic extracts by running arterial blood direct into ten times its volume of absolute alcohol and evaporating the alcohol at the low temperature in vacuo. He found that the extracts from the blood of normal rabbits produced vasodilation, but that the extracts made from animals in which protein shock had been produced contained a vasosonstrictor substance. The preparations were tested on perfused frogs. Previously FREUND had found (4) that plasma contained a vasodilator substance which rapidly disappeared when the plasma clotted.

We made a series of experiments on rabbits. The animals were pithed, artificial respiration performed and the blood run direct from the carotid into alcohol. Great care was taken to shake the container continously to ensure rapid mixing of the blood and the alcohol.

In all cases a certain amount of vasoconstrictor substance was found in the blood extract. The results are shown in table III.

TABLE III.

The vasoconstrictor action of the serum, of serum extracts, and of blood extracts, of rabbits.

The figures show the parts per million of adrenalin which produce a similar vasoconstrictor action.

Number of rabbit.	1	2	3	4	5	6	7	8	Average
Serum	4	5	10	2	1.2	5	5	2	4.2
Alcoholic extract of serum	3	1.2	2.5	0.5	—	—	—	1	1.6
Alcoholic extract of blood	0.6	0.8	1.0	0.25	0.5	0.5	0.5	—	0.6

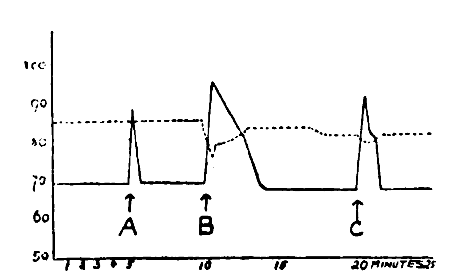
Table III shows that in no case were we able to obtain an alcoholic extract of fresh blood devoid of vasoconstrictor action. In several experiments we obtained higher results than those shown in table III, but these results were discarded because there was doubt whether the blood and the alcohol had been mixed sufficiently rapidly.

At first we believed that sera and also the extracts of sera and blood produced a diphasic effect of vasodilation followed by vasoconstriction, for the number of drops in the first half minute was frequently increased. A few experiments showed that the vasodilator effect was not genuine, but was due to a lowering of surface tension and a consequent increase in the number of drops to the cubic centimetre of the perfusion fluid.

This was proved very simply by replacing the rabbits ear by a bundle of glass capillaries and measuring the effect of the various

preparations upon this system. The results are shown in figure 1 where it will be seen that the injection of alcoholic extract of blood can increase the number of drops per minute by 25% per cent and that serum can increase the number of drops per minute by 30% although the true rate of flow is actually decreased.

Figure 1.



Effects produced by injections of serum etc., when a bundle of glass capillaries are perfused at a pressure of 35 cm. of water.
Upper line. Volume of flow in 0.01 cc. per minute.
Lower line. Drops per minute.
A. Injection of alcoholic extract of 1 cc. of rabbit plasma.
B. Injection of 1 cc. of cat's serum.
C. Injection of 0.1 cc. of cat's serum.

This experiment shows that the recording of the rate of perfusion by a drop counter is a highly inaccurate method when any substance is tested which alters the surface tension of the perfusion fluid. The experiment also shows that the increase of viscosity due to injection of serum may produce a certain diminution in the rate of flow.

These experiments led us to the conclusion that the existence of any vasodilator substance in blood extracts was extremely doubtful.

The action of blood upon the isolated gut and uterus.

Experiments with the isolated gut and uterus of the rat and the isolated uterus of the guinea pig showed us that sera of all the animals tested contained a substance wich stimulated all these preparations and that the sera of the rat, guinea pig and rabbit had a much stronger stimulant action than the sera of the ox or the horse.

It was also found that great individual variations occured in the action of bloods and sera on these preparations and therefore rats were chosen as the chief subjects of experiments so that by using a large number of animals, accidental individual variations could be eliminated.

The response of the rat's gut was found to depend greatly upon the condition of the preparation as is shown in figure 2 where the same serum produced stimulation in the fresh gut and slight inhibition in the exhausted gut. The oxygen supply also was found to be

Figure 2.



The variation in the action of serum on the isolated rat's gut.
Rat's serum 1 % was introduced I to a fresh piece of gut and II to the same piece of gut two hours later.

of great importance for diminution of the oxygen supply greatly diminished the sensitivity of the gut.

The action of serum or of blood on the gut is very irregular and DITTLER (5) noted that the rabbits serum produced a diphasic action of the rabbit's gut, namely a short inhibition followed by stimulation. He found also (6) that fresh blood produced chiefly an inhibitor effect, but that a stimulant substance was formed during coagulation. He found that the inhibitor substance did not dialyse but that the stimulant substance dialysed freely, was thermostable and was not precipitated by phosphotungstic acid.

PELLEGRINI (7) found that the fresh blood of the normal rabbit acted chiefly as an inhibitor to the rabbit's gut but that blood taken from animals in asphyxia produced a stimulant effect. He concluded that the full diphasic action of inhibition followed by stimulation occured before coagulation took place, but that coagulation released a further amount of stimulant substance. He noted (8) great individual variations in the action of fresh blood, and concluded that blood contained at least two substances, one depressor and thermolabile and one stimulant and thermostable, neither of which was adrenalin. HEYMANS (9) also noted the presence of a gut inhibitor substance in fresh blood. The authors used chiefly the gut and uterus of the rat and obtained fresh blood from rats by decapitating the animals and at once introducing the blood into the bath containing the preparations. Usually 1/2 cc. of blood was added to a 20 cc. bath and not more than 20" elapsed between the shedding of the blood and the

introduction into the bath. The blood was found to produced a uniform stimulant action on the rats uterus, but the action on the gut was extraordinarily variable as is shown in figures 3 and 4. The action on the gut was in some cases pure inhibition, in some cases pure stimulation and in others a diphasic action. These variations did not depend upon varying degrees of tonus of the gut nor upon the degree of exhaustion of the gut.

Figure 3.

The action of rat's blood and of alcoholic extract of rat's blood upon the isolated uterus and gut of the rat.

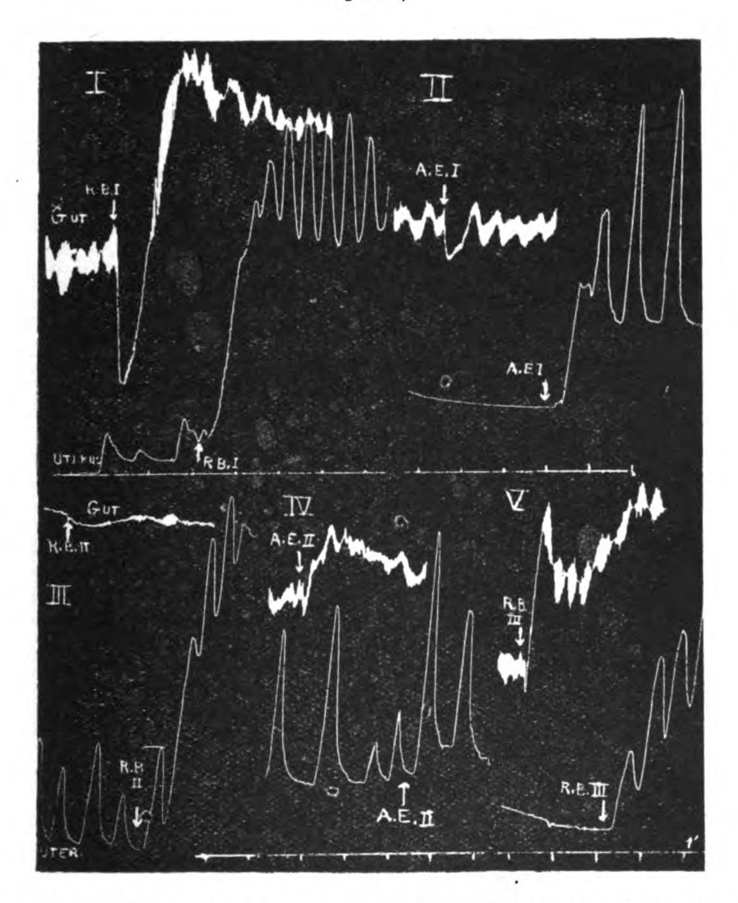
I. Rat's blood 2.5 %.

II. Alcoholic extract of the same blood as in I; the concentration introduced corresponds to 2.5 % of fresh blood.

Figure 4 shows clearly that there is no simple relation between the action of fresh blood on the gut and its action on the uterus, for sample 2 of blood which produced pure inhibition of the gut stimulated the uterus, more powerfully than did sample 3 which caused contraction of the gut.

Figure 5 shows that similar variations can occur in the case of rabbit's serum ; in this case three samples of serum all produced a similar action on the gut but one sample stimulated the uterus whilst


Figure 4.



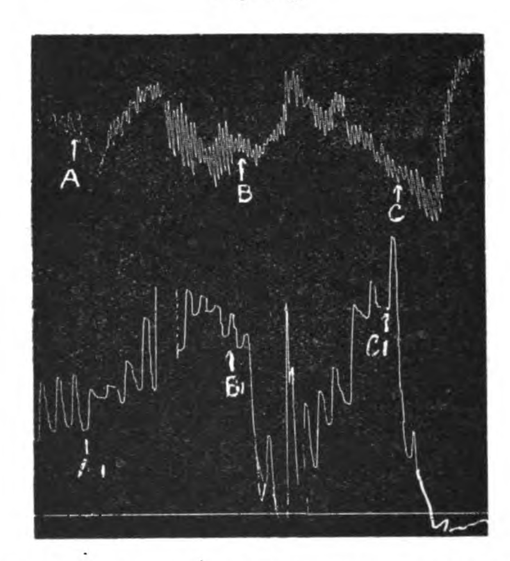
Tracings showing the varying effects of rat's blood and of extracts of rat's blood upon the isolated gut and uterus of the rat.
Each of the five tracings shows the movements of the gut above and the uterus below.
Tracings I, III and V show the effects of 2.5 % or fresh rat's blood.
Tracings II and IV show the actions of alcoholic extracts of rat's blood (2.5 % of blood).
The extracts were made from the bloods used in I and III respectively.

the other two samples inhibited the uterus. The sample which stimulated the uterus had a less powerful vasoconstrictor action than the other two samples, but this relation was not found to hold in other cases.

The rats uterus is extremely sensitive to adrenalin, and in many cases 1 in 1000 million of adrenalin produces a well marked inhibition of the uterus. The presence of serum however diminishes the

sensitivity of the uterus and figure 6 shows that in the presence of serum only about 1 in 100 million adrenalin, can be demonstrated.

Figure 5.

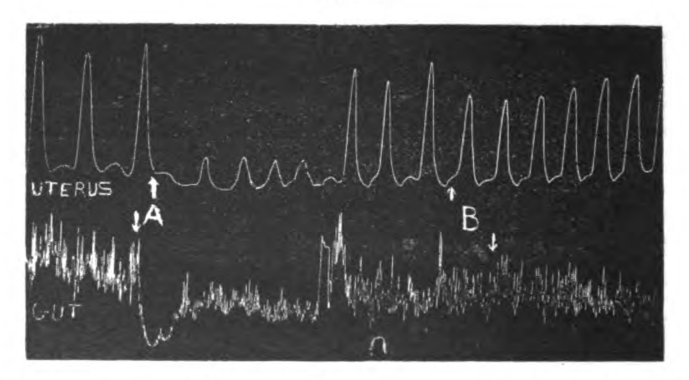


The actions of three different samples of rabbit's serum. Upper tracings rats gut and lower tracings rats uterus.

At A, B, and C 0.25 % of serum introduced, and at A1, B1, and C1 2 % of serum introduced.

A corresponds to serum number 8, B to serum number 6 and C to serum number 7, of the sera whose vasoconstrictor action in shown in table III.

Figure 6.



The actions of mixtures of adrenalin and serum upon the isolated uterus and gut of the rat.

A. Introduction of 1 % of rat's serum containing 1 per million of adrenalin.

B. Introduction of 1 % of rat's serum containing 1 in 5 million of adrenalin.

The chief facts brought out by the experiments described are that great individual variations occur in the action of fresh blood of

rats upon isolated organs, and that when the action of the blood is tested simultaneously upon two different organs, namely the isolated rats gut and uterus, the different reactions of the gut and uterus may vary in a completely independent manner.

These facts suggest that there are several substances present in the blood, which have different pharmacological actions on isolated organs and that these substances can vary independently. Our experiments confirm however the conclusion arrived at by many previous workers that during clotting a substance is liberated which has a powerful stimulant upon all plain muscle.

The fresh blood of the rat in the great majority of cases produced an initial inhibition of the isolate rats gut and a pure stimulant action on the rats uterus. This fact is important since adrenalin and histamine both have a stronger inhibitor effect on the rats uterus than on the rats gut, and cholin produces a much stronger stimulant action on the rats gut than on the uterus. The only substance we have found that stimulates the rats isolated uterus more strongly than the rats gut is pituitary extract. These points are shown in table IV.

TABLE IV.

Drug	The actions produced upon the isolated organs of rats and the minimal active concentrations.	
	(1) The gut	(2) The uterus
Adrenalin	Inhibition 1 in 100 million	Inhibition 1 in 1000 million
Histamin	Stimulation 1 in 1 million	Inhibition 1 in 5 million
Choline	Stimulation 1 in 200,000	No action 1 in 50,000
Physostigmine	Stimulation 1 in 100 million	Stimulation 1 in 1 million
Pituitary Extract . . .	No action 1 in 20,000	Stimulation 1 in 100,000

Fresh rat's blood also produced a powerful stimulation of the isolated guinea pig's uterus : 1 % of blood produced about the same effect as 0,001 % of pituary extract. Various experiments were made to determine the nature of the substance in fresh blood which inhibits the gut. The substance was regularly present in alcoholic extracts of blood as is shown in figure 3, and it was frequently demonstrable in serum.

Ultrafiltration of serum gave doubtful results. Usually the result

was as is shown in figure 7, where the ultrafiltrate gave no inhibition, but also gave a feebler augmentor action than the original

Figure 7.



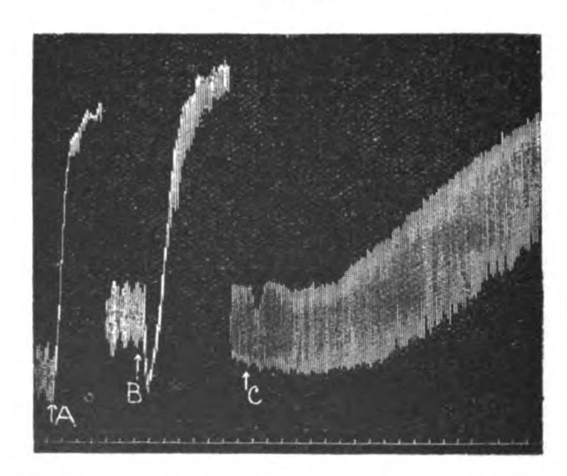
The action on rat's gut of (A) 0.4 % ultrafiltrate of rabbit's serum, and (B) 0.4 % of unfiltered rabbit's serum.

serum. In some cases however the ultrafiltrate gave a distinct inhibition.

A few experiments were made to test what substances passed from the blood into the peritoneal cavity.

RINGER's fluid was injected into the peritoneal cavity of rats and the animals were killed after an hour and the action of their blood and of the peritoneal fluid was tested. The peritoneal fluid caused a well marked stimulant action on the uterus and also produced inhibition followed by stimulation of the gut as is shown in figure 8.

Figure 8.



Isolated gut of rabbit.
A. 2.5 % of rat's serum.
B. 10 % of fresh rat's blood.
C. 10 % of fluid that has been in the peritoneal cavity of a rat for 1 hour.

Experiments were also made in the hope of finding some difference between the blood of rats suffering from vitamin deficiency

and the blood or normal rats. In many cases preliminary experiments suggested that such differences existed, but in every case repetition of the observations on a more extensive scale showed that there was no certain difference. The great individual variations observed in the actions of the blood of normal rats obviously made it necessary to be extremely cautious before drawing conclusions.

To test this point four dozen rats were kept on a vitamin B deficient diet for 4-6 weeks and killed when they were showing signs of so-called polyneuritis. We were however unable to be certain that the effects produced by their blood on the rat's uterus and gut differed in any essential manner from the effects produced by the blood of normal rats.

Another series of experiments was performed with rats kept on a diet deficient in vitamin A for 4-6 weeks until signs of xerophthalmia appeared. These experiments like the last were negative in their results.

The chief point by which we were impressed was the extreme variability of the effects produced by the blood and serum of different individuals of the same species and the great importance of basing any conclusions upon a large number of observations.

A few experiments were made on the isolated frog's heart to determine the rate of action of the active principles in blood.

Figure 9 shows that the blood produces an action within two

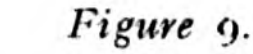
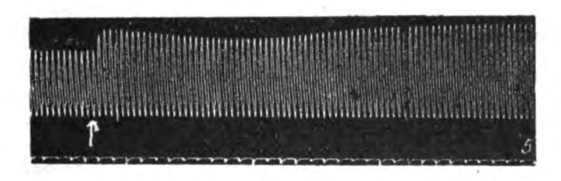


Figure 9.



The action of rats blood upon the perfused frog's heart.
Two cc. of Ringer's fluid were circulated through the heart.
The arrow marks the introduction of 2 % of rats blood.
A stimulant effect was produced within 2 seconds.

seconds of being introduced into the perfusion fluid. The secondary rise which commences after about 40 seconds is presumably due to the liberation of some substance during clotting. Fresh rat's blood also had a feeble stimulant action on the isolated rabbit's auricle.

CONCLUSIONS.

(1) The substances in serum insoluble in alcohol produce a slight vasoconstrictor action, which is nearly the same in all the species tested.

(2) The alcohol soluble substances in serum produce a stronger vasoconstrictor action, this action varies with different species. The relative activity of these alcohol soluble substances is roughly as follows: horse serum 1, ox serum 2, rat serum 5, rabbit serum 20.

(3) Alcoholic extracts of arterial blood of rabbits and rats contain a vasoconstrictor substance, their action is about one half that of alcoholic extracts of the corresponding sera.

(4) Alterations in surface tension may form a very serious source of error when the rate of perfusion is estimated by a drop recorder.

(5) It is doubtful whether any vasodilator substance exists in alcoholic extracts of blood.

(6) Fresh blood contains a substance which has a strong stimulant action on the rat's isolated uterus and an irregular action on the isolated intestine of the rat. This substance is alcohol soluble and dialysable. Fresh blood also stimulates the isolated uterus of the guinea pig, the isolated frog's heart and the isolated rabbit's auricle.

(7) Great individual variations were observed in the actions of the blood of rats and rabbits upon isolated organs.

REFERENCES.

(1) JANEWAY, *Richardson and Park. Arch. of Intern. Med.*, 21, 565, 1918.

(2) CLARK, *Journ. of Physiol.*, 54, 267, 1920.

(3) FREUND, *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 91, 273, 1921.

(4) FREUND, *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 88, 39, 1920.

(5) DITTLER, *Pflüger's Arch.*, 157, 453, 1914.

(6) DITTLER, *Zeit. f. Biol.*, 68, 222, 1917.

(7) PELLEGRINI, *Arch. Internat. de Physiol.*, 17, 209, 1921.

(8) PELLEGRINI, *Journ. de Phys. et de Path. Gén.*, 20, 14, 1922.

(9) HEYMANS, *Journ. de Phys. et de Path. Gén.*, 19, 348, 1921.

FROM DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY, UNIVERSITY OF TORONTO.

On Ethylene as an Anæsthetic

by

W. EASSON BROWN AND V. E. HENDERSON

Late in 1922 Dr. W. E. Brown began a series of experiments in this departement with the idea of increasing the efficiency of nitrous oxide for general anaesthesia by adding to it some other substance, and after some preliminary experimentation it was decided to make a study of ethylene. At that time the only reference that could be found to ethylene as an anaesthetic were in FRANKEL (1), which stated that ethylene had little anaesthetic action and a note in a paper by MALISOFF and EGLOFF (2) that ethylene was not poisonous in concentrations of 75% in air.

A preliminary account of these experiments was read before the Academy of Medecine, Toronto, on February 20th, 1923, and published in the Canadian Medical Association Journal on March 7th, 1923 (3). The following week an account of experiments carried on at the University of Chicago was published by A. B. LUCKHARDT, and J. B. CARTER (4). Their experiments arose out of the observation made in 1908 that carnations were affected by low concentrations of ethylene arising from illuminating gas, and this led them to study its effects on animals.

Ethylene is an unsaturated hydrocarbon, having the formula C^2H^4. At ordinary temperature and pressures it is a gas having a peculiar ethereal odour. In the presence of oxygen it forms an explo-sive mixture when brought into contact with a free flame. The ethylene was produced in this laboratory by the following method ; pure absolute alcohol was allowed to fall drop by drop into a 500 c.c. distillation flask immersed in a boiling water-bath. This led to prompt volatilization of the alcohol which was then led through a combustion tube packed with aluminum oxide at a temperature of 350° C. The distillate was led through a condensing system immersed in a

freezing mixture, and was then conveyed to bottles inverted over water. This yielded a gas absorbed by bromine to the extent of 99 + %, the remaining ± 1 % appeared to be air. Ether, alcohol, aldehydes and other impurities if present were condensed in the freezing mixture.

In the earlier work animals were exposed in bell-jars to various mixtures of this gas and oxygen. The mixture of 80 % ethylene, 20 % oxygen depressed the animal and caused it to lie on its side. The respirations were slightly increased at first but soon became normal. Small quantities of oxygen were added from time to time and the animal remained passive for an hour or more. On removing it from the vessel it quickly recovered, and within two or three minutes appeared perfectly normal and would eat any food with avidity. Mice, rats, guineapigs and small rabbits were anaesthetized in this way. As the amount of ethylene was limited further experiments were carried out by making the animal breathe in and out of a closed container whose top was formed of a bathing cap. The respiration was recorded by means of a tambour connected to a T-piece in the connection to the respiration chamber. The blood pressure was taken from the carotid artery. The carbon dioxide produced by the animal was absorbed by caustic soda solution and oxygen was added to replace its loss. This apparatus proved to be not en irely satisfactory as it was not altogether air tight in some experiments and in consequence errors in the estimated oxygen content were introduced. In the subsequent experiments the animal breathed in and out of a gasometer delicately counterpoised, and in which the carbon dioxide was absorbed by soda lime. Analyses of the contained mixture were made from time to time to ensure greater accuracy than could be obtained by estimation.

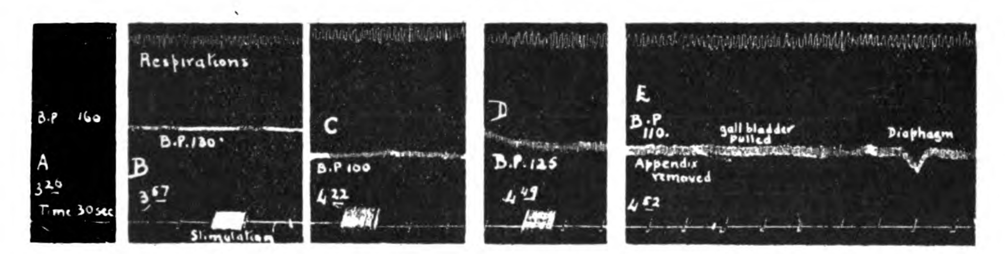
Cats and dogs have been anaesthetized by this method for periods of time lasting over two hours. The animals' wounds were in some cases closed at the end of this period and the animal allowed to come out of the anæsthetic, which it did in three to five minutes. The animals were then promptly killed.

In all these experiments the saphenous nerve was exposed to stimulation from time to time with an electric current. Anæsthesia was considered complete when stimulation of this nerve caused only slight changes in respiration and blood pressure but no movements. This is a very sèvere test. Even when slight movements were obtained the skin could be deeply incised without causing movement. In several cases the abdomen was opened, traction made upon the mesentery, the gut manipulated, the appendix tied off and other procedures carried out. In all these casses only silght effects were produced on blood-pressure respiration, or cardiac rate. These experiments show that complete anæsthesia can be produced by this gas in the

presence of sufficient oxygen to abundantly support life. The percentages necessary vary slightly from animal to animal, but once anæsthesia was produced it was maintained for long periods of time with little change in respiratory or cardiac rate or blood pressure. In several experiments the blood pressure at the end of the experiment was only 10 to 20 mms of pressure below that at its commencement.

Experiment 20. 7.4.23. Cat 1.5 Kg. Figure 1. Under ether canulae were inserted in carotid artery and in trachea, saphenous nerve exposed.

Figure 1.

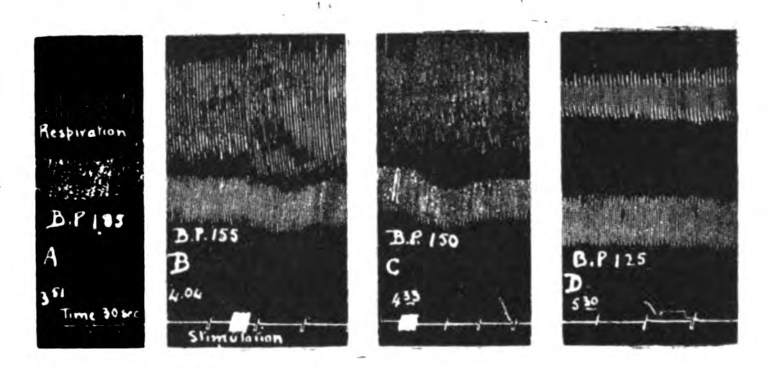


B. P. taken with spring manometer height from base × 5.
A. 3.26 p.m. Just prior to giving ethylene respirations with a membrane manometer connected by T to trachea.
B. 3.57 p.m. Anaesthetized for 17 minutes. Writing points raised base line now 2 mm below time line.
C. 422 p.m, Anaesthetized for 42 minutes.
D. 4.49 p.m. Anaesthetized for 69 minutes including a period of toxic action and recvery.
E. 4.52 p.m. Period of operations.

3.10 p.m. Ether removed. B. P. 150.
3.25 p.m. Cat showing movements. B. P. 160.
3.27 p.m. Ethylene 87 %, oxygen 13 %.
3.35 p.m. Still shows movements. B.P. 150.
3.36 p.m. Ethylene % increased 88 %, oxygen 12 %. B. P. 150.
3.40 p.m. No movements on stimulating nerve. B. P. 150.
4.03 p.m. (Oxygen not added rapidly enough to replace loss). Ethylene 89 %, oxygen 11 %. B. P. 150.
4.10 p.m. Ethylene 87 %, oxygen 13 %. Oxygen was added more rapidly. B. P. 110.
4.16 p.m. Now ethylene 85 %, oxygen 15 %. B. P. 110.
4.22 p.m. B. P. 100.
4.25 p.m. B. P. 95. Ethylene increased to 87 %, oxygen 13 %.
4.29 p.m. Pressure fell rapidly, respirations ceased.
4.30 p.m. B. P. 35. Animal inflated with oxygen.
4.31 p.m. Animal breathes again. B. P. 45.
4.33 p.m. Reonnected B. P. 110. Respiration 18. Ethylene 86 %, oxygen 14 %.
4.37 p.m. Oxygen increased, ethylene 82 %, oxygen 18 %. Respiration 30.
4.53 p.m. B. P. 110. Respiration 36. Operations on abdomen, appendix tied off and removed, gall bladder pulled upon, diaphragm scratched and liver pulled on.
4.58 p.m Ethylene 84 %, oxygen 16 %
5 00 p.m. B. P. fell to 40. Respiration ceased.

Experiment 38. 8.4.23. Dog 7.7 Kg. Figure 2. Under ether canulae were inserted in carotid artery and in trachea and saphenous nerve exposed.

Figure 2.



B. P. ani respirations as in Figure 1.
A. 3.51 p.m. Respirometer connected.
B. 4.04 p.m. Anaesthetized with Ethylene.
C. 4.33 p.m. Anaesthetized for 29 minutes.
D. 5.30 p.m. Anaesthetized for 86 minutes. Had received toxic concentrations on four occasions.

3.40 p.m. Ether removed.

3.50 p.m. Dog struggling. B. P. 185.

3.52 p.m. Respirometer attached. Ethylene 85.2 %, oxygen 14.8 %. B. P. 155. Respiration 78.

4.02 p.m. Ethylene 90 %, oxygen 10 %.

4.04 p.m. Stimulation, no movement.

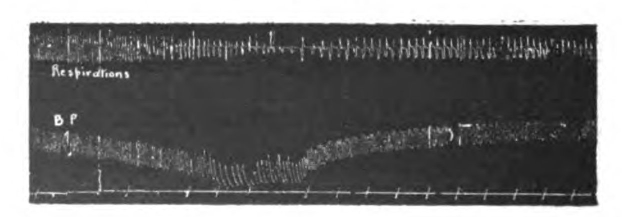
4.14 p.m. Ethylene 88 %, oxygen 12 %.

4.16 p.m. B. P. 165. Respiration 50. Stimulation, no movement.

4.25 p.m. Ethylene 79 %, oxygen 21 %. B. P. 150. Respiration 42. Stimulation, slight movement.

4.34 p.m. Ethylene 88 %, oxygen 12 %. P. P. 150. Respiration 80. Stimulation, no movement.

Figure 3.



Intoxication and recovery with increase in oxygen.

4.49 p.m. Same concentration. B. P. 120. Respiration 66.

4.51 p.m. Respiration failing. B. P. falling (fig. 3). Oxygen given in increased amount. Recovery of B. P. and respiration.

4.53 p.m. Ethylene 86 %, oxygen 14 %.

4.57 p.m. Respiration fell to 6, B. P. 105.

4.58 p.m. Oxygen was added.

5.00 p.m. Ethylene 84 %, oxygen 16 %.

5.07 p.m. B. P. 135. Respiration 72. Ethylene 87 %, oxygen 13 %.

5.12 p.m. B. P. 115. Respiration 60.

5.13 p.m. B. P. 55. Respiration 36.

5.17 p.m. Respiration ceased. B. P. 50. Respirometer disconnected, inflated with oxygen for 30 seconds.

5.19 p.m. Respirations began. B. P. 70.

5.20 p.m. Reconnected. Ethylene 87 %, oxygen 13 %. B. P. 65.

5.22 p.m. Respiration 30. B. P. 115.

5.25 p.m. Ethylene 90 %, oxygen 10 %. B. P. 130. Respiration 60.

5.25.30 p.m. Ethylene 93 %, oxygen 7 %. B. P. 110. Respiration 60.

5.26.30 p.m. Ethylene 94.6 %, oxygen 5.4 %. B. P. 70. Respiration 30.

5.27 p.m. Ethylene 95.5 %, oxygen 4.5 %. In 10 seconds respiration ceased. B.P. 85. Disconnected, given oxygen.

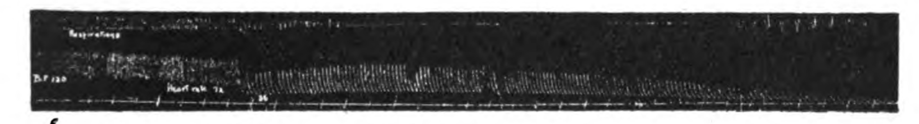
5.29 p.m. Reconnected. B. P. 125. Respiration 36.

5.36 p.m. B. P. falling. Respiration failing.

5.37.30 p.m. Heart rate halved 72 to 36.

5.39 p.m. Respiration ceased. Heart continued to beat for 5 ½ minutes. Figure 4.

Figure 4.



Death with a rapidly toxic concentration.

In Experiment 29 nitrous oxide was used as an anæsthetic for the preliminary operation. When the animal came out 11.10 a. m. B. P. 125. Ethylene-oxygen given, anæthesia at 11.20 a. m. B. P. 165, an even anæsthesia was then maintained for 2 hours at the end of which time B. P. was 150.

These experiments taken in conjunction with many others show that a mixture of 87-88 % ethylene with 12-13 % oxygen will produce anæsthesia in about five minutes in the cat. In the dog 88-90 % seems to be required. Anæsthesia can be maintained in the cat with some 80-82 % ethylene and in the dog with approximately 85 %. The cat seems to be slowly poisoned, as indicated by a slow fall in blood pressure and respiration rate by some 85-86 %, while in the dog 87-89 % seems to give a similar result. In the cat 89 % appears to be quickly toxic as does 93-95 % in the dog. As shown in the experiments reported above and in Figure 3 an increase of the oxygen content or inflation with oxygen very quickly relieves any dangerous symptoms without necessarily breaking the anæsthesia. Respiratory failure has, in all cases in which a toxic percentage was used, preceded cardiac death by several minutes allowing ample rime for remedial measures.

Soon after we were satisfied that ethylene had an anæsthetic action a series of experiments were performed to ascertain whether

ethylene could reinforce the anæsthetic and analgesic action of nitrous oxide. The subjects who were not aware what mixtures they were receiving inhaled from a bag mixtures of the three gases or of oxygen and one of the anæsthetics. In all cases the oxygen percentage was either 20 or 15 %. A mixture of nitrous oxide 70 %, ethylene 10 %, oxygen 20 % had more analgesic effect than 80 % nitrous oxide, as is well illustrated by the following illustrative protocols.

(A) 14.2.23. N.C.S.

(a) *Nitrous Oxide* 80 %, *oxygen* 20 %.

1 minute 15 seconds pounding like motorcycle in head, whirling sensation, expected eyes to not focus no trouble, well oriented, no change in speech. Can feel all pricks with needle. 3 minutes exposure.

(b) *Nitrous Oxide* 70 %, *oxygen* 20 %, *ethylene* 10 %.

Earlier throbbing and whirling sensations but not so severe. After 1 minute (as soon as whirling sensation began) distinct numbing to pin pricks. Doubtful if hurting. Needle through skin was no more painful than pricks. Was unaware until told that needle had gone through skin. Finally a feeling that « don 't care if it does hurt. »

Quicker recovery than in (a). Pleasant recollections.

(B) Black.

15 % *oxygen*, 85 % *nitrous Oxide*.

In 4 minutes 30 seconds became irrational and failed to answer.

15 % *oxygen*, 10 % *ethylene*, 75 % *nitrous oxide*.

In 1 minute 50 seconds became irrational and failed to respond to orders.

Pure NO.

In 2 minutes failed to close hand at command.

90 % *NO*, 10 % *ethylene*.

In 1.05 min. failed to close hand at command.

(C) 16.2.23. *Experiment* 2. Test of analgesia forcing needle slowly into skin of arm.

Anaesthetic started.

4.47 p.m. « Fine feeling. » No change.

4.48.30 p.m. Feels pain dully. « Head feels all right. »

4.49 p.m. No pain.

4.49.30 p.m. No pain. Not talking.

4.49.45 p.m. « Brown talks loud. »

4.50 p.m. Needle through skin drawing blood, no pain.

4.50.15 p.m. Pressure sensation but no pain.

4.50.30 p.m. No pain.

4.50.45 p.m. No pain. Needle through ear.

4.51 p.m. Off.

4.51.30 p.m. Slight pain.

4.52 p.m. « Pleasant feeling. »

(D) *Farnsworth. Boil left forearm opened.*

4.15.30 p.m. Anaesthetic commenced.

4.16 p.m. Head dizzy. Breathing fair. « I'm away now. »

4.16.30 p.m. Boil opened. No pain. Needle through skin, no pain. Answere questions. Feels pressure.

4.17 p.m. No pain. Answers questions. Feels sensation of pain, slight.
4.18 p.m. Pain. Out.

The descriptions of all these subjects, several of whon were entirely ignorant of the gases used, agreed that while nitrous oxide-oxygen alone produced marked pounding or whirling sensations with a definite period of dizziness subsequent to removal of the anæsthetic, and that the sensations were definitely unpleasant nitrous oxide and ethylene was distinctly more pleasant. There was a general feeling of numbness, little pounding or fullness in the head, a more marked feeling of « fading away » and less subsequent dizziness. Pain sensations were also much more definitely dulled or in some cases absent.

While it is difficult to compare our experiments in detail with those of Luckhardt and Carter (4), there is a very general agreement in the findings. We seemed to obtain anæsthesia with slightly lower concentrations than they did and we are satisfied that the percentage of ethylene necessary varies slightly in different animals and also that the percentage necessary for maintenance is somewhat lower than required for induction.

Several members of the laboratory staff, were anasthetized with ethylene and oxygen for short periods of time. On obtaining a supply in cylinders from a manufacturing house more prolonged experiments were undertaken on man. It was determined that as a rule a mixture of 90 % ethylene and 10 % oxygen was sufficient to induce anæsthesia in man, while a mixture of 85 % ethylene and 15 % oxygen was amply sufficient to maintain anæsthesia. The subjects recovered in 3-5 minutes and only exceptionally was there any subsequent nausea. Several of the subjects had previously been anæsthetized with nitrous oxide and pronounced that ethylene anæsthesia was definitely more pleasant. Blood pressure was but slightly influenced. The heart rate and respirations little effected. This anæsthetic has been used by one of us (W. E. B.) for several operations on man and has given complete relaxation, no cyanosis and little post operative nausca.

Luckhardt on May 19th, 1923, published notes on 106 operations carried out with this anæsthetic. His observations and those made by us show conclusively that ethylene is a safe pleasant anæsthetic when administered by competent persons.

CONCLUSIONS.

1. Ethylene is a gaseous anaesthetic more potent than nitrous oxide, more pleasant to take and as quickly recovered from, with little effect on the heart or blood pressure.

2. Toxic doses cause a failure of respirations and vasomotor centre. Cardiac death is due to asphixia.

REFERENCES.

1. FRANKEL, *Artzneimittel Synthese*, Ed. V., 471. Berlin 1921.
2. MALISOFF & EGLOFF, *J. Physical Chem.*, 23.1919.65.
3. BROWN, *Can. Med. Ass.* J., Vol. 13, 1923, 210.
4. LUCKHARDT & CARTER, *J. Am. Med. Ass.*, 80. 1923. 765.
5. LUCKHARDT & CARTER, *J. Am. Med. Ass.*, 80. 1923. 1440.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. U. DI MESSINA.
(DIRETTORE: G. VINCI).

Sulle fini modificazioni che si osservano nelle miofibrille sotto l'azione dell' atropina, della pilocarpina e della nicotina.

PER

LUIGI TOCCO
(aiuto).

(con 1 tavola e 3 figure)

« Chi puo' sviluppare la gemma opera con semplicità. »

RABINDRANATH TAGORE

INTRODUZIONE.

SCHMIEDEBERG (1) nel 1870 osservava per primo i caratteristici effetti che la nicotina esercita sui nervi inibitori del cuore. Avvelenando una rana, con piccole quantità di questo alcaloide, da prima aveva un rallentamento dell'attività cardiaca ed il cuore poteva fermarsi in diastole persino uno-due minuti, poscia il cuore ripigliava a battere come se fosse normale. Se in questo secondo tempo dell'azione del farmaco eccitava gli apparecchi nervosi inibitori del cuore la stimolazione del vago rimaneva senza effetto, anzi il cuore nicotinizzato batteva più frequentemente di prima, mentre stimolando il seno venoso o applicandovi muscarina, il cuore si arrestava in diastole.

Di guisa che il cuore rispetto alla stimolazione del vago si comportava come se fosse atropinizzato, di fronte alla stimolazione del seno venoso invece come un cuore normale.

SCHMIEDEBERG spiegò questo fatto supponendo che in seguito all'avvelenamento per nicotina una porzione dell'apparecchio inibitore doveva essersi modificato in modo da impedire il passaggio dell'eccitazione che si determina in seguito alla stimolazione del vago. Tale porzione doveva, secondo l'autore, necessariamente trovarsi più distante dal miocardio della porzione dove aveva sede la stimolazione del seno o l'azione della muscarina ed essere intermedia al tronco del vago e agli apparecchi terminali rimasti eccitabili.

Qualche tempo dopo l'introduzione dell' Jaborandi in Europa, E. HARNACK e H. MEYER (2) nel 1880 dimostrarono che gli stessi fenomeni sopra descritti per la nicotina si hanno per somministrazione di pilocarpina.

Sotto l'azione di questo alcaloide i battiti cardiaci si fanno più lenti e in seguito si presenta un arresto diastolico che negli animali superiori da esperimento dura poco mentre nelle rane dura persino due minuti, quindi i battiti si fanno più frequenti. Allora l'eccitazione del vago è inefficace, mentre la stimolazione diretta o per mezzo di muscarina del seno venoso porta all'inibizione. Gli autori ritennero che la pilocarpina come la nicotina agisse sopra una porzione intermedia dell'apparecchio inibitore del cuore.

Il rallentamento dei battiti cardiaci, che si determina in primo tempo per azione della nicotina e della pilocarpina, viene prontamente tolto da piccolissime dosi di atropina.

Dalle esperienze di HARNACK e HAFEMANN (3) poi risulta che già dosi di mgr. 0,02 di atropina in $cm.^3 50$ di liquido circolante bastano per paralizzare le terminazioni intracardiache del vago e allora non si riesce ad ottenere una inibizione del cuore nè per stimolazione del vago o del seno, nè per azione di muscarina, pilocarpina o nicotina.

A stabilire la sede di azione di questi farmaci gli AA. furono portati dalla analisi comparativa dei fenomeni causati dagli alcaloidi da loro studiati e da molti altri veleni sull'apparecchio inibitore cardiaco, per esempio dalla curarina, studiata da LANGLEY e ANDERSON (4) nel 1895, e logicamente non era possibile ammettere altra interpretazione. Se non che quello che si chiama apparecchio inibitore cardiaco è un organo molto complesso, ancora poco conosciuto, che dev'essere più complicato di quella parte dell'apparecchio terminale dei nervi motori (5) che noi raggruppiamo sotto il nome di placche terminali motrici, perchè la sua funzione è più complessa. Ancora infatti si discute come si distribuiscono i nervi nelle miofibrille, ed è opinione generale che i rapporti tra miofibrille e terminazioni nervose sono molto intimi e tali da far ritenere che esse vengano a diretto contatto cogli articoli fibrillari come ho in succinto riferito in altro mio lavoro (6).

Comunque, stabilita con sufficiente e bastevole approssimazione la sede di azione di questi farmaci, non mancarono gli studiosi che vollero vedere direttamente quali modificazioni essi apportano nei tessuti nell'esplicare la loro azione.

Le ricerche istologiche in proposito a me note sono quelle fatte sui gangli cardiaci da alcuni AA (7), quelle di DEUTSCH e CONRAD nel 1898 (8) e di OTTO nel 1911 (9). I primi per somministrazione di atropina nel cane osservarono nei gangli, che si trovano nella parte posteriore del setto interauricolare, la cromatina diffondersi nel paraplasma e il corpo nucleare diventare quasi omogeneo e trasparente ; per

somministrazione di muscarina poi la sostanza cromatica si fonde in bolle confluenti e a forti dosi dà lo stesso reperto dell'atropina. Anche OTTO, iniettando la nicotina per via endovenosa a conigli per 4-10 mesi, osservò lesioni parenchimatose ed interstiziali nel miocardio, vacuolizzazione e perdita dei granuli nelle cellule nervose ganglionari.

A me pare che questo interessante argomento meriti di essere meglio approfondito, e per ciò, servendomi di una tecnica che mi ha dato buoni risultati in altri lavori, ho fatto delle ricerche sistematiche sulle modificazioni che l'atropina, la nicotina e la pilocarpina apportano sugli elementi delle miofibrille nell'esplicare la loro azione farmacodinamica.

I reperti avuti sono stati così costanti e confortanti che ritengo prezzo dell'opera rendere pubblici i risultati da me ottenuti.

Sarebbe stato mio desiderio estendere lo studio comparativo anche alla muscarina, ma dopo la guerra questo importante alcaloide è diventato un mito, e le betaine, con le quali ho tentato sostituirla, non mi hanno dato buoni risultati.

Divido questa mia nota in due parti, nella prima parte sperimentale cito la tecnica usata ed espongo i reperti istologici ottenuti, nella seconda parte paragono i reperti ottenuti coi fenomeni farmacodinamici spiegati dalle sostanze studiate e illustro, sotto forma di ipotesi, quale possa essere l'intimo meccanismo della loro azione.

PARTE I°.

Tecnica.

Sostanze adoperate e vie di somministrazione. — Usai il solfato neutro di atropina, il cloridrato di pilocarpina e la nicotina liquida, tutte della casa Merck, in soluzione acquosa al ½ %.

Le soluzioni del farmaco furono somministrate alle rane (esculenta), per solito grossi maschi da tempo tenuti in vivaio, sia per instillazione sul cuore messo allo scoperto, sia per iniezione nel sacco dorsale, o nei muscoli della coscia, o nel celoma.

Tecnica istologica e prelevamento dei pezzi. — In queste mie ricerche, che si basano quasi esclusivamente sulla metacromasia e sulla affinità o meno dei tessuti per le colorazioni adoperate, la questione della tecnica istologica è di importanza capitale, tanto più che la miofibrilla, data la sua funzione contrattile, non è un elemento facilmente fissabile nella fase desiderata e si altera rapidamente. Ho cercato perciò di ridurre al minimo queste cause di errore seguendo quanto dice VINCI (10) a proposito della cellula renale e mettendomi sempre in identiche condizioni sperimentali in modo da essere sicuro che le modificazioni ottenute sono dovute al farmaco studiato e non ad un vizio di tecnica.

Maggiori cure sono state necessarie per le colorazioni, perchè, come esporrò in seguito, a seconda del farmaco o del periodo di azione di esso, le miofibrille non assumono, o poco, la colorazione speciale usata (ferrica secondo HEIDENHAIN). Era quindi necessario assodare se il fatto dipendeva dal farmaco o dalla tecnica essendo quella colorazione regressiva e il punto di arresto dipendendo dall'operatore. Ho cercato di ovviare a questo inconveniente utilizzando come punto fisso di colorazione le emazie e sorvegliando tratto tratto la differenziazione in allume ferrico al microscopio in modo da potermi accertare che la diminuita o cessata affinità per la colorazione si doveva effettivamente ad azione del farmaco sulle miofibrille e non ad un difetto di tecnica nella colorazione.

Per il prelevamento dei cuori seguì la tecnica da me usata in altri lavori (11) ai quali rimando.

Fissatori. — Nelle prime esperienze usai un gran numero di fissatori ma di questi solo il Carnoy rispose ai miei desiderata : fissare rapidamente il cuore nella fase voluta di sistole o diastole ; non alterare le miofibrille. Nelle esperienze successive infatti usai sempre il Carnoy perchè questo fissatore permette un gran numero di colorazioni, e specialmente perchè è il solo che fissi immediatamente un cuore buttato in esso, mentre, in tutti gli altri fissatori, il cuore continua a battere per qualche secondo e si formano quà e là dei cercini sistolici o delle bozze diastoliche.

Passaggio negli alcool, rischiaramento, inclusione. — Dal Carnoy il cuore era tolto quando si poteva osservare la luce per trasparenza, cosa che avveniva dopo circa tre ore, a seconda naturalmente della grossezza del pezzo, e subito veniva lavato in alcool assoluto finchè questo non reagiva più acido alla carta di tornasole. Procedeva poi alla inclusione in paraffina a 48° passando per miscele di varie concentrazioni alcool-xilolo, secondo il metodo di SAUER-RATHERY.

Sezioni, colorazioni.—Usai sezioni di 2-4 μ (più adatte sono quelle di due). Delle colorazioni feci le bleu policromo di UNNA, GIEMSA e le speciali secondo il metodo di BENDA, sebbene le sezioni provenissero da pezzi fissati in Carnoy.

Sempre e a preferenza, per lo studio e le microfotografie, usai i preparati ottenuti coll'ematossilina ferrica secondo HEIDENHAIN.

Montai in balsamo di Canadà neutro :

Esperienze

Ho raggruppato le numerose ricerche fatte in cinque gruppi.

Nel primo e secondo espongo il reperto che presentano gli articoli delle miofibrille arrestati in diastole rispettivamente per nicotina e per pilocarpina.

Nel terzo gruppo le modificazioni che la somministrazione di

atropina apporta nelle miofibrille precedentemente arrestate in diastole dalla nicotina o dalla pilocarpina.

Nel quarto gruppo studio le modificazioni che presentano le miofibrille che funzionano di nuovo dopo aver subito l'arresto diastolico per nicotina o per pilocarpina.

Nel quinto gruppo espongo i reperti istologici che si osservano nelle miofibrille sotto l'azione dell'atropina.

In questo studio ho preso in esame gli articoli generalmente ammessi da tutti gli autori: stria Z di Amici, i due dischi spessi neri Q, i due dischi chiari I, la stria chiara di Hensen M, i nuclei e il sarcoplasma.

1º Azione della nicotina sulle miofibrille arrestate in diastole.

Con questo alcaloide ho fatto numerose esperienze somministrando il farmaco ora per iniezione nel sacco dorsale, ora instillandolo direttamente sul cuore, ed ho prelevato i cuori in diverse fasi di azione del farmaco, sia appena le diastoli tendevano a diventare più ampie, sia quando il cuore si arrestava in diastole, o si contraeva in qualche ultima e rara sistole. Tutti i cuori, in qualunque tempo dell'azione del farmaco furono prelevati, si mostrarono adatti per lo studio istologico.

Tanto nei preparati che provengono da cuori fissati in diastole quanto in quelli che provengono da cuori fissati in sistole, in ogni miofibrilla si notano degli elementi in posizione sistolica, degli elementi in posizione diastolica e degli elementi in fase intermedia. Nei cuori fissati in diastole gli elementi in fase sistolica sono piuttosto scarsi e si trovano in genere agli estremi della fibra, verso la parte centrale pravalgono gli elementi in fase diastolica o nella forma di passaggio. Nei cuori fissati in sistole gli elementi in fase sistolica prevalgono agli estremi e il centro della fibra è occupato da elementi in fase di rilasciamento. Queste zone però non sono nettamente separate, degradano lentamente le une verso le altre ed esistono solo per comodità di descrizione.

Osservando questi preparati la prima cosa che colpisce lo studioso è la grande nitidezza delle immagini che le miofibrille presentano. Non più fibre attorcigliate ed a volute sinuose come si osservano nei preparati di cuore normale o sotto l'azione di farmaci cardiocinetici, ma fibre distese uniformemente e regolarmente sopra un piano ; solo nei cuori fissati in sistole, verso le estremità si trovano miofibrille leggermente sinuose.

Comincerò la descrizione dall'aspetto che presentano le miofibrille rilasciate in diastole.

I dischi Q, in posizione longitudinale, sono tanto turgidi che M

o non esiste o è appena visibile, mentre i dischi chiari I sono netti e confluiscono con quelli delle case successive perchè Z non ha assunto il colore ed è appena visibile a luce lateralizzata o in campo oscuro.

I due dischi Q di un elemento sono preceduti e susseguiti a poca distanza dai dischi Q degli altri elementi della fibra in modo che ne risulta una figura lineare regolare.

La massa sarcoplasmatica visibile in ogni elemento sembra aumentata tanto che i dischi Q sono separati, dai margini laterali della fibra, da una zona chiara abbondante. Ho detto sembra perchè le grandezze in questi studi sono relative ai confronti fatti con altri preparati normali o no e le misure esatte non sono possibili senza ricadere nelle discussioni di GUTHERZ, HÜRTHLE e MEIGS (12).

Con un attento esame e ricorrendo ad artifizi di tecnica è possibile formarsi una idea di Z : è una nitida bandelletta piuttosto inturgidita, che mantiene sempre e costantemente la sua posizione trasversale nell'elemento.

Quà e là però, in certi punti lungo il decorso della fibra, si possono osservare dei dischi Q poco colorati i quali offrono un reperto che preludia quello che presentano i cuori che ricominciano a battere dopo l'arresto diastolico.

Procedendo nell'esame delle miofibrille, si osserva che la zona diastolica degrada verso la sistolica attraverso un gran numero di elementi in forma di passaggio.

Questa forma è caratterizzata dall'aspetto che assumono i dischi Q. Essi si presentano come quattro globetti circondati da una zona chiara sarcoplasmatica piuttosta abbondante. Se si osservano bene, fochettando con grande attenzione, si vede però che questi globetti corrispondono due a due alle sezioni di un'ansa, come se un disco Q fosse piegato ad uncino, e talora sono i due globetti superiori, talora è uno superiore e uno inferiore dello stesso lato, che si riuniscono determinando nel primo caso anse trasversali alla fibra, nel secondo caso anse longitudinali.

Le sezioni trasversali delle fibre confermano senza alcun dubbio che effettivamente i puntini sono gli estremi delle anse formate dai dischi Q.

La stria Z è scolorata ma mantiene sempre la sua posizione trasversale alla fibra.

Agli elementi in forma di passaggio sussegue la zona contratta in sistole la quale in genere è cortissima.

I dischi Q, trasversali alla fibra, sono stretti, nitidissimi, separati tra loro da una esile stria chiara M e dalle case successive da piccoli dischi chiari I che confluiscone con quelli degli altri elementi perchè Z non ha assunto il colore.

Il reperto che presentano i cuori fissati, prima di arrestarsi in

diastole, in qualche rara sistole, varia poco da quello precedentemente descritto.

La zona diastolica, in genere non molto estesa, ha i dischi Q dei singoli elementi un poco più avvicinati nella loro posizione longitudinale gli uni agli altri, la zona di passaggio è piuttosto breve, mentre la zona sistolica presenta le miofibrille sinuose coi dischi Q trasversali appena separati tra loro da M e dalle case successive da un esile disco chiaro I. La stria Z è scolorita, poco visibile, ma mantiene sempre la posizione trasversale alla fibra.

I nuclei, nei cuori fissati in diastole, sono più colorati, più stretti e più allungati, in quelli fissati in sistole meno colorati, più tozzi e più corti.

2° REPERTO DELLE MIOFIBRILLE ARRESTATE IN DIASTOLE DALLA PILOCARPINA.

Mano mano che l'alcaloide esplicava l'azione vari cuori erano fissati o in diastole o in sistole, altri in arresto diastolico definitivo. Ho avuto pure cura di fissare alcuni cuori in una di quelle rare sistoli che si osservano quando il cuore tende già ad arrestarsi in diastole.

Il farmaco fu somministrato sia per instillazione, sia per iniezione nel sacco dorsale, o nel celoma, o nei muscoli della coscia. Tutte le sezioni fatte, da qualunque cuore pervenissero, furono utilizzate per lo studio.

Nelle linee generali le miofibrille di cuore arrestato in diastole dalla pilocarpina offrono le stesse figure di quelle arrestate dalla nicotina, variano solo in alcuni particolari che espongo in appresso. Comincio la descrizione dai cuori fissati in fase diastolica.

La zona diastolica, per lo più situata nella parte mediana della fibra, é molto estesa, nitidissima, regolare quasi come una linea retta, ed è costituita da miofibrille che presentano i dischi Q ben colorati, leggermente allungati, disposti longitudinalmente alla fibra, appena separati tra loro da una esile stria chiara M, e dai dischi Q, superiori e inferiori, da un disco chiaro I poco spesso sebbene sia fuso con quello dell'elemento vicino per la mancanza di Z. (Fig. 1).

La stria di Amici infatti non assume il colore o debolmente, ma, osservata cogli artifizi tecnici sopradetti, appare sempre situata trasversale alla fibra e come una bandelletta piuttosto turgida.

Il sarcoplasma appare abbondante e in tutti gli elementi si nota in esso una soffusione di sostanza cromatica in alcune parti più accentuata in altre meno. Talora questa soffusione e più manifesta nei dischi chiari I come se la sostanza cromatica di Z si fosse diffusa in essi.

In questi cuori, più che in quelli fissati sotto l'azione delle nicotina, è facile trovare elementi con gli articoli Q che cominciano a non

assumere bene la colorazione, mentre il sarcoplasma acquista una leggiera tinta gialliccia matta.

La zona diastolica è separata dalla sistolica da una zona di passaggio per solito molto estesa, con gli elementi ricchi di sarcoplasma e i dischi Q ridotti a quattro puntini, talora piccolissimi ma sempre bene netti, che, fochettando, si riconoscono come gli estremi dei dischi Q foggiati ad ansa più o meno curva. Questa disposizione dei dischi Q è in molti elementi evidentissima, e tale da non lasciare dubbi ed è confermata dalle sezioni trasversali delle miofibrille.

Alla zona di passaggio segue la zona sistolica, in genere poco estesa, che presenta i caratteri sopra descritti per la stessa zona a proposito della nicotina. Se ne differenzia in quanto non è raro trovare case coi dischi Q che assumono poco il colore mentre la sostanza cromatica Q è diffusa a zolle o in certi posti é addensata così da tingere in nero una o più case.

I cuori fissati in una rara sistole, prima che avvenga l'arresto diastolico, presentano le miofibrille con una zona sistolica abbastanza lunga e sinuosa, situata per lo più alla periferia del miocardio, coi dischi Q trasversali, sottili, ben colorati separati da un'esile stria chiara M che diventa tanto più esile, sino a sparire, man mano che la fibra è più addensata nella contrazione. La stria di Amici Z è visibile come una bandelletta più chiara dei dischi I che separa mantenendo sempre la posizione trasversale.

I dischi chiari I sono piccolissimi e diminuiscono sempre più d'importanza con l'addossarsi delle case. In questa zona non è raro trovare dei dischi Q che assumono male il colore, mentre la sostanza cromatica Q è diffusa nel sarcoplasma o è raccolta a zolle più o meno grosse.

Alla zona sistolica segue la zona di passaggio e la zona facoltativa, coi dischi Q nelle relative caratteristiche posizioni, molto nitidi se bene le case siano un po' addossate le une alle altre e talvolta, nella zona diastolica, i dischi Q si susseguono da figurare una linea retta.

Z è scolorita ma sempre trasversale alla fibra. Anche in queste zone si trovano alcune case coi dischi Q scoloriti mentre il sarcoplasma, non troppo abbondante, ha assunto una tinta grigia.

I nuclei dei cuori fissati in diastole sono fusati e più colorati, quelli dei cuori in sistole piu tozzi e meno colorati.

3° AZIONE DELL'ATROPINA SULLE MIOFIBRILLE ARRESTATE IN DIASTOLE DALLA NICOTINA E DALLA PILOCARPINA.

La tecnica adoperata in queste ricerche fu la seguente :

Ad un gruppo di rane veniva somministrata la nicotina o la pilocarpina per iniezione nel sacco, ad un altro gruppo i farmaci venivano instillati sul cuore messo allo scoperto.

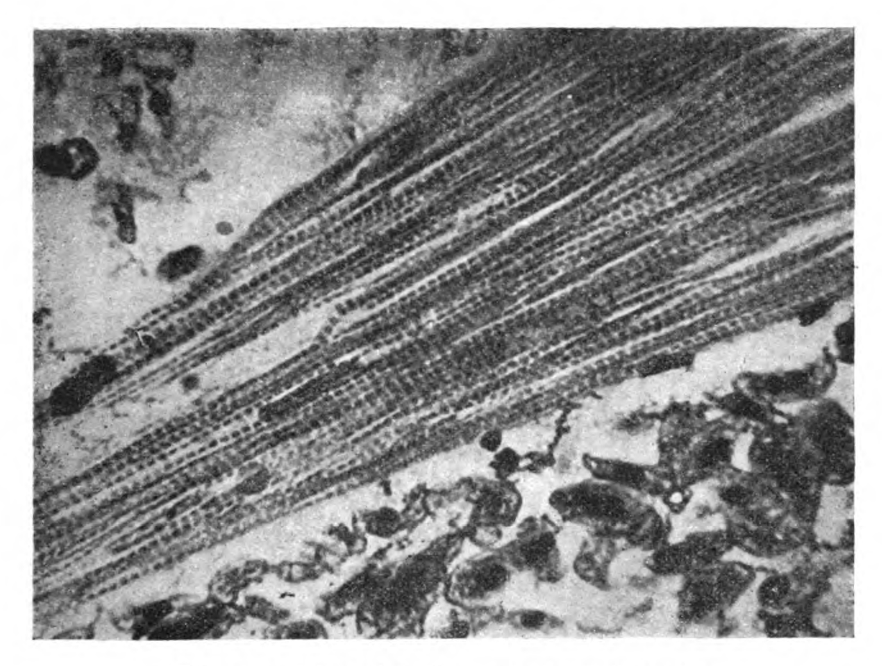


FIG. 1. — Pilocarpina, ob. $\frac{1}{15}$, oc. 12 c., cam. 40 cm.
Le miofibrille uniformemente rilasciate in diastole posano tutte sopra un piano. Le strie Z non hanno assunto il colore. I dischi Q bene colorati, longitudinali, danno alla fibra l'aspetto di linee rette regolari.

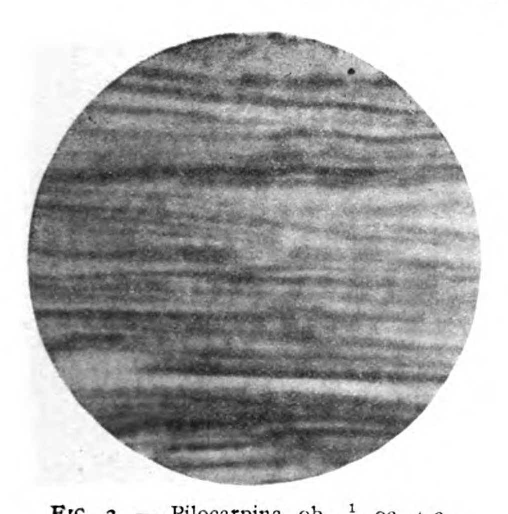


FIG. 2. — Pilocarpina, ob. $\frac{1}{15}$, oc. 4 c., cam. 52 cm.
Miofibrille che pulsano dopo l'arresto diastolico. Zona diastolica.
Stria Z incolora. I dischi Q poco o nulla colorati. La sostanza cromatica diffusa nella fibra è raccolta in piccoli granuli o zollette più o meno colorati.

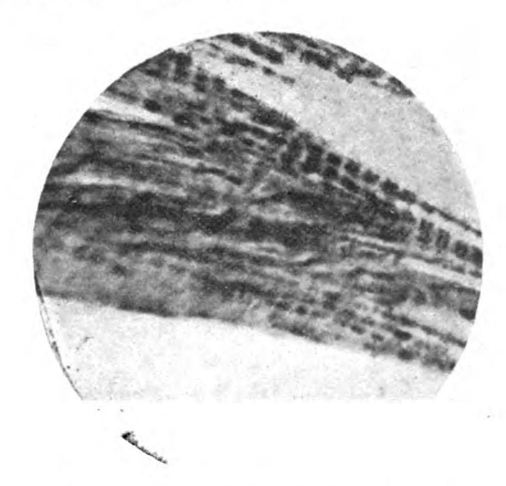


FIG. 3. — Miofibrille di cuore di rana atropinizzato.
Zona sistolica, ob. 2 mm., oc. 6 c., cam. 40 cm.
La sostanza cromatica Q è diffusa negli elementi e quà e là raccolta a zolle e granuli più o meno colorati.

L. TOCCO. — Microfotografò.

Avvenuto l'arresto diastolico, e solo quando questo durava da circa 30'', iniettavo la soluzione di atropina (mgr. 1-2) nel celoma o la instillavo in soluzione al ½ % sul cuore.

Come il cuore ripigliava a pulsare veniva legato, sia in sistole che in diastole, staccato e fissato rapidamente.

Comunque sperimentassi i risultati furono sempre identici.

Siccome le miofibrille dei cuori così trattati non assumono o poco e debolmente la colorazione ferrica mentre le emazie si colorano intensamente per mettermi al sicuro da eventuali sbagli di tecnica ho dovuto sempre sorvegliare la colorazione e la decolorazione delle sezioni al microscopio a piccolo ingrandimento. In tal modo ho potuto sincerarmi che effettivamente nelle miofibrille, in seguito all'azione di questi farmaci, è avvenuta una modificazione dell'affinità di esse per il colore; per la quale o non si colorano o si colorano male.

Cogli artifizi tecnici più volte citati è però possibile uno studio degli articoli delle miofibrille e del sarcoplasma.

Le miofibrille presentano un fondo di colore grigio ferro diffuso, nel quale sono disseminati numerosi piccoli granuli di sostanza cromatica Q colorati più o meno in nero.

Talora, alla periferia del cuore, questi granuli confluiscono e formano delle zolle nere che occupano numerose case o anche la porzione finale della fibra.

Quà e là, lungo il decorso della fibra, tanto nella zona sistolica che diastolica, si notano dei dischi Q colorati, nella posizione caratteristica delle diverse fasi, ma coi contorni poco netti e dentellati, e con l'interno vacuolizzato da minutissimi vuoti incolori.

Capita pure non raramente che i granuli neri sono precipitati nella stria Z incolora la quale in tal modo viene resa bene visibile avendo i due margini fortemente colorati dalla sovrapposizione di questi granuli.

Nella zona diastolica i dischi Q, a giudicare da quei colorati, sono piuttosto esili, avvicinati in modo da elidere la stria chiara M, e separati da quelli delle case successive dai dischi chiari I piuttosto ingrossati, colorati in grigiastro.

Nella zona sistolica i due dischi Q, trasversali alla fibra, sono quasi sempre bene visibili sia che siano tinti in grigio sia che abbiano assunto la ferrica. Essi sono esili, addossati gli uni agli altri, cosparsi di minute goccioline nere di sostanza cromatica Q, coi margini a contorni poco netti.

Il sarcoplasma tanto nella zona diastolica che sistolica appare abbondante come pure la grossezza delle miofibrille pare aumentata.

I nuclei sono in genere piccoli, colorati in grigio e talvolta si notano in essi delle zolle di cromatina che hanno assunto più o meno la tinta nera.

4° REPERTO ISTOLOGICO DELLE MIOFIBRILLE DI CUORE DI RANA FUNZIONANTE DOPO L'ARRESTO DIASTOLICO DETERMINATO DALLA PILOCARPINA E DALLA NICOTINA.

In queste ricerche usai una tecnica semplicissima.

Il farmaco era somministrato sia per instillazione sul cuore messo allo scoperto, sia per iniezione nel celoma.

Avvenuto l'arresto diastolico, come ricominciavano a funzionare, a tempi diversi, i cuori erano rapidamente legati, staccati e fissati.

Siccome l'azione della pilocarpina è in questo caso pressochè identica a quella della nicotina aggruppo in una sola descrizione i reperti osservati.

Nella descrizione del primo stadio di azione di questi farmaci sulle miofibrille ho fatto notare che non è infrequente trovare delle case del Krause cogli articoli Q poco colorati o male colorati.

Questo fatto, che è appena accennato in quei cuori, diventa prevalente come i cuori ricominciano a battere dopo l'arresto diastolico.

Le miofibrille presentano una tinta grigia uniforme nella quale si differenziano gli articoli Q per un tono più alto di colore dal grigio-ferro al nero.

Nel sarcoplasma si trovano numerosissimi granuletti colorati con un nero più o meno intenso, talora sparsi, talora aggruppati in vicinanza degli articoli. Questi granuli nella zona sistolica della fibra si addensano nelle case e si presentano come ammassi lineari costituiti da zollette più o meno grandi.

Lungo il decorso delle miofibrille, tanto nella zona sistolica che in quella facoltativa, non sono rari gli articoli Q che si presentano abbastanza bene colorati, coi margini poco netti, circondati da minuti grani di sostanza cromatica Q. La stria Z non è facilmente percettibile dove le miofibrille hanno assunto un poco il colore mentre si riconosce talvolta dove la sostanza cromatica Q è distribuita come fini granuli nella casa perchè in tal caso uno strato esilissimo di essi è deposto sui lati della stria di Amici.

Se noi osserviamo una miofibrilla notiamo in essa le solite tre zone di contrazione, di passaggio, facoltativa.

La zona diastolica o facoltativa è per lo più nella parte centrale della miofibrilla, e presenta i dischi Q longitudinali, a margini sfrangiati, addossati tra loro tanto che la stria chiara M non è sempre visibile, separati dai dischi Q delle case successive da un piccolissimo disco I (Fig. 2). Osservata a luce lateralizzata la fibra si presenta fortemente striata con strie grosse alternate a strie sottili corrispondenti ai dischi Q e alle strie di Amici.

Il sarcoplasma appare piuttosto abbondante, torbido ed osservando attentamente la torbidezza si risolve in un ammasso di granuli minutissimi di un grigio più o meno carico sino al nero.

La zona intermedia, di solito non molto estesa, separa la zona precedentemente descritta dalla zona sistolica.

I dischi Q in questa zona, si presentanto trasversali, sottili, colorati, con contorni non netti, molto avvicinati tra di loro e a quelli delle case successive in modo che la stria M è appena visibile, o virtuale, i dischi chiari I piccoli.

La stria Z è sempre trasversale, esile, scolorita o appena tinta.

Nel punto di incrocio delle fibre si notano degli articoli Q bene colorati, piuttosto grossi, e tra questi sono disseminate delle zolle di sostanza cromatica Q. Alla periferia del miocardio, nel punto di inserzione delle fibre, si trova quasi sempre accumulo di sostanza cromatica Q in modo da dare alle fibre un aspetto nero indifferenziato.

I nuclei sono piccoli, rotondeggianti, leggermente tinti nei cuori fissati in diastole; allungati scoloriti in quelli fissati in sistole; in entrambi si notano zolle di cromatina più o meno colorata.

5° Azione dell'atropina sugli articoli delle miofibrille.

Staccava i cuori, dopo aver somministrata l'atropina nei vari modi citati nella tecnica generale, solo quando la stimolazione del seno venoso, praticata con correnti debolissime, rimaneva senza affetto, e, come al solito, alcuni cuori erano fissati in diastole, altri in sistole.

L'azione dell'atropina sulle miofibrille varia a seconda del modo di somministrazione del farmaco. Se questo viene instillato, l'azione si inizia dalle fibre periferiche del miocardio e rapida si diffonde a quelle interne; se viene iniettato, l'azione si inizia contemporanea in tutte le fibre. Comunque il reperto è sempre identico: le miofibrille, nella maggiore parte, perdono o diminuiscono l'affinità per la colorazione ferrica.

Per la tecnica istologica seguita rimando alle considerazioni svolte in altre parti di questa nota.

I fasci fibrillari si presentano di un colorito giallo-grigiastro, torbido, uniforme, nel quale si trovano sparsi granuli, in numero e grandezza varia, di sostanza cromatica Q più o meno colorati in una tinta che va dal grigio-ferro al nero. Osservando a forte ingrandimento il sarcoplasma, la torbidezza che esso presenta si risolve in una serie di granuli o più o meno soffusi e colorati.

In certi punti del preparato, di solito alla periferia o al punto d'incrocio delle miofibrille, la sostanza cromatica Q si presenta a zolle nere, leggermente soffuse, ed occupa diverse case in serie in modo da assumere l'aspetto di una linea nera, sinuosa, irregolare.

Osservando attentamente una fibra in tutte le sue porzioni ci

facciamo facilmente il concetto che l'atropina modifica la costituzione fisico-chimica delle sostanze costituenti la miofibrilla (sostanza cromatica Q, sarcoplasma), ma non altera gli articoli come fanno i glicosidi cardiocinetici (13), perchè i dischi oscuri Q, i dischi chiari I, le strie chiare M e la stria di Amici mantengono immodificata, nelle loro linee generali, la forma e la situazione nelle spazio propria di ogni fase, solo che i dischi Q, prendono una tinta giallo-grigiastra e quando si colorano assumono una tinta grigio nerastra o nera.

Descriverò l'aspetto che presentano le miofibrille cominciando dai cuori fissati in diastole, e ritengo non ovvio ricordare al lettore che, per essere gli articoli poco colorati, in questo studio mi sono servito degli artifizi tecnici altrove citati.

In ogni miofibrilla si nota una porzione in fase sistolica ed una in fase diastolica separate tra loro da una porzione in fase di passaggio per solito molto breve e non sempre bene evidente.

La zona sistolica è piccola, sinuosa, situata per lo più ad un estremo della fibra, generalmente alla periferia del cuore. Essa presenta i dischi Q sottili, stretti, molto avvicinati tra loro ed ai dischi delle case successive di modo che la fibra assume un aspetto caratteristico striato. Queste strie, formate dai dischi Q, possono essere colorate, sebbene per solito lo siano poco ma sempre più della stria chiara M e dei dischi chiari I che hanno il tono del sarcoplasma. In molte miofibrille la sostanza cromatica Q è riunita a larghe zolle, coi margini alquanto sfumati, confluenti, e copre del tutto gli articoli in modo da trasformare la miofibrilla in una retta nera poco differenziata (Fig. 3).

A luce lateralizzata appare fortemente striata e le bande trasversali di contrazione sono molto vicine le une alle altre.

La zona intermedia o di passaggio è breve, non sempre bene differenziata.

Nella zona diastolica i fasci di miofibrille si presentano ricchi di sarcoplasma torbido, di colore giallastro, con numerose granulazioni che hanno più o meno assunto la ferrica e che sono di grandezza minore di quelle che si osservano nella zona sistolica.

I dischi Q, sono longitudinali a margini poco netti, scoloriti o di un bruno-giallastro più forte del colore del sarcoplasma, addossati o avvicinati regolarmente tra loro in modo che la fibra poggia perfettamente sopra un unico piano ed offre l'aspetto di una linea retta regolare. M è piccola o nulla. I sempre breve. Lungo il decorso della fibra si notano dei dischi Q, che hanno assunto più o meno la colorazione ferrica e sono frammisti a zollette di sostanza cromatica Q.

L'estremo della fibra in fase di rilasciamento o facoltativa non è mai esile e stirata come ho descritto a proposito della strofantina e digitalina (6).

Le sezioni dei cuori fissati in sistole si diffenziano da quelli fissati

in diastole per la zona sistolica più lunga, più sinuosa, più ricca di zolle di sostanza cromatica Q, e una zona diastolica generalmente più breve, regolare, con scarsa distribuzione di granuli cromatici Q.

I nuclei sono allungati o tozzi, generalmente incolori, con zolle di cromatina ben colorata sparsa quà e là.

RIASSUNTO DEI REPERTI ISTOLOGICI.

Da quanto ho sopra esposto risulta che gli alcaloidi studiati esercitano sulle miofibrille un' azione che interessa l'aspetto, la forma e la sostanza di tutta la fibra, di guisa che le parti di cui essa è composta, sarcoplasma, articoli fibrillari, sostanza cromatica Q ne viene variamente modificata a seconda del farmaco e della durata di azione di esso.

Le modificazioni determinate dalla nicotina e dalla pilocarpina sono pressochè identiche e si differenziano bene da quelle causate dall'atropina. Paragonando poi l'azione di entrambe risultano delle proprieta generali a carico delle miofibrille che mi permettono di indagare, sino a un certo punto, quale possa essere il meccanismo dell'azione farmacodinamica di queste sostanze.

Riassumo, qui in appresso i caratteri che presentano le singole parti delle miofibrille.

Il *sarcoplasma* nel primo periodo di azione della nicotina e della pilocarpina si presenta come se fosse normale, appare solo più turgido ed abbondante ; nel secondo periodo non è più ialino e trasparente, ma torbido, granuloso, e assume una leggera colorazione grigiastra.

L'atropina sia che venga somministrata sola, sia che venga somministrata quando i cuori sono arrestati in diastole dalla nicotina o dalla pilocarpina, determina sempre nel sarcoplasma delle modificazioni per le quali esso appare granuloso, torbido, leggermente colorato in un colore giallo-grigiastro meno intenso di quello che assume la fibra per azione della nicotina e della pilocarpina.

Una osservazione è qui neccessaria.

Queste modificazioni sono proprie del sarcoplasma o sono determinate dal diffondersi in esso di quantità più o meno rilevanti di sostanza cromatica Q?

Non mi pare possibile rispondere esaurientemente a questo problema giacchè, per il solo fatto che la sostanza cromatica Q si è diffusa nel sarcoplasma, la costituzione fisico — chimica di esso può essersi modificata. Siccome la sostanza cromatica Q appare sciolta e modificata e si presenta sparsa nel sarcoplasma sotto forma di granuli o di zolle più o meno intensamente colorati in nero, io non posso dire se questi granuli e zolle sono costituiti esclusivamente da sostanza cromatica Q, oppure da questa che si è sciolta nel sarcoplasma o comunque combinata con esso.

Ritengo quindi più probabile ammettere che l'azione di questi farmaci si esplica contemporaneamente sul sarcoplasma e sulla sostanza cromatica Q tanto più che, dati i loro stretti rapporti, non è possibile separare gli efferti causati sull'uno da quelli causati sull'altra.

Sostanza cromatica Q. Queste ricerche confermano l'opinione di quegli AA. che ritengono che la stria Z, pure essendo analoga per proprietà ottiche ai dischi Q, si differenzia per elettività di colori e per reazioni chimiche. Infatti, sin dall'inizio dell'azione della nicotina e della pilocarpina, la stria Z non è più nettamente visibile, assume poco o niente la colorazione, la sua sostanza cromatica è modificata, mentre i dischi Q si colorano ancora intensamente e non appaiono alterati.

La sostanza cromatica Q subisce le maggiori modificazioni nel secondo periodo della azione della nicotina e della pilocarpina e per azione dell'atropina : meno per i primi farmaci, di più per il secondo. Essa sotto l'azione dell'atropina non assume più o debolmente il colore, o si trova sparsa lungo la fibra sotto l'aspetto di granuli o zolle, più numerose nella zona sistolica, scarse nella parte mediana della fibra, tinte in un colore che va dal giallo scuro al nero. Per azione potratta invece della nicotina e della pilocarpina la sostanza cromatica Q presenta solo attenuata la sua affinità per il colore. I dischi Q assumono ancora una tinta scura o nera, essa è meno diffusa nella fibra ed il numero dei granuli e delle zolle è minore che nei preparati provenienti da cuori atropinizzati.

La stria Z di Amici è la prima parte della fibra che subisce l'azione di questi farmaci, ma più di essa sembra attaccata la sua sostanza cromatica. In ogni tempo e in ogni fase Z è più o meno esile e visibile, sempre traversale alla fibra, mentre la sostanza cromatica non assume più il colore e pare diffusa nella fibra.

I dischi Q subiscono per azione dell'atropina e per azione prolungata della nicotina e delle pilocarpina delle modificazione che interessano meno la loro forma, più la loro costituzione.

Comunque modificati essi mentengono sempre nello spazio la loro posizione a seconda della fase nella quale si trovano e sono sempre trasversali nella contrazione, longitudinali alla fibra nella fase di rilasciamento.

Per effetto protratto della nicotina e della pilocarpina essi appaiono coi bordi leggermente sfumati e come indecisi, assumono un colore grigio-ferro, e sono leggermente vacuolizzati ; per effetto dell'atropina invece i più non prendono affatto o poco il colore, sono più soffusi, coi margini poco netti e il corpo più vacuolizzato.

I dischi chiari I e la stria chiara M subiscono il destino del sarcoplasma e la loro forma cambia col cambiare della struttura e posizione dei dischi Q. La stria M s'impicciolisce e sparisce se i dischi Q

sono molto avvicinati tra di loro ; i dischi chiari I si fondono tra loro e sembrano più grandi perchè Z è incolora ; sono poi chiari quando il sarcoplasma è chiaro, sono torbidi e granulosi con granuli colorati quando il sarcoplasma è alterato.

PARTE II°.

Sguardo generale comparativo ai risultati ottenuti

Se ora noi compariamo i reperti istologici sopra esposti, vediamo subito che l'azione dell'atropina, della nicotina e della pilocarpina sulle miofibrille si esplica in modo che più ricondursi a un tipo unico :

Essi modificano in modo più o meno intenso il sarcoplasma e la sostanza cromatica Q.

Queste modificazioni però dipendono dalla natura del farmaco e dalla durata d'azione di esso. Sono infatti più rapide e più intense per l'atropina, meno per la pilocarpina e la nicotina ; sono appena accennate, e colpiscono solo la stria Z, nel primo periodo dell'azione della pilocarpina e della nicotina, più intense e generali nel secondo periodo.

Considerata quindi nelle linee generali, l'azione di questi farmaci è sempre identica e si manifesta a noi colle modificate affinità verso il colore della sostanza cromatica Q e colla diffusiosa di essa nella fibra.

Non saprei precisare se le leggere modificazioni di forma e struttura che si osservano a carico dei dischi Q siano proprie dei farmacì su di essi o causati dal diffondersi della sostanza cromatica Q. Cosí per esempio la fine vacuolizzazione che osserviamo in essi in certi casi, potrebbe dipendere tanto da una azione del farmaco sul disco Q quanto da una azione solvente del farmaco sui granuli cromatici Q che si trovano nel disco.Non mi pare possibile definire, allo stato attuale delle nostre conoscenze, questo problema, giacchè i legami tra sostanza cromatica Q e dischi Q sono tanto intimi che è impossibile considerare gli uni senza l'altra. Non saprei inoltre precisare se la stria Z, oltre perdere l'affinità per il colore, non subisca altre intime modificazioni nella sua struttura sebbene a noi ci appaia sempre trasversale alla fibra e solo più o meno grossa.

Di guisa che in ultima analisi l'intimo meccanismo di azione di questi farmaci sulle miofibrille si ridurrebbe ad una semplice modificazione fisico — chimica della costituzione di una parte degli elementi delle miofibrille.

Sarebbe la concezione di principio che ammette per ogni effetto venefico una modificazione del chimismo nelle sedi fisiologiche di azione.

Quali siano le cause che possono derterminare queste varie modificazioni, quale sia la natura e il significato di esse, cercherò di esporre nel capitolo seguente con una serie di considerazioni che propongo come ipotesi.

CONSIDERAZIONI.

Le qualità di una sostanza, di apportare modificazioni sopra un determinato organo, possono essere dedotte da diversi criteri, quali:

il criterio fisico, e in questo rientrano le modificazioni dell'affinità per il colore;

il criterio fisico-chimico, il quale ci rivela i cambiamenti di una sostanza dallo studio dei parametri delle sue soluzioni;

il criterio chimico che poggia sulla percentuale delle sostanze che l'analisi chimica rivela depositata o asportata o modificata in un dato organo;

il criterio biologico che si basa sulle modificazioni di reazione e di funzionalità del tessuto influenzato;

il criterio anatomico che è spesso una combinazione o una risultante dei criteri sopradetti.

Di grande conforto in queste ricerche sarebbe stato il criterio chimico, il quale mi avrebbe permesso di mettere in chiaro se c'è deposito o sottrazione o modificazione di sostanza, ma, purtroppo attualmente noi non possediamo sui corpi che costituiscono le miofibrille cognizioni chimiche così esatte da poter rilevare quando essi sono modificati, giacchè spesse volte queste modificazioni sono così fini da sfuggire all'indagine chimica la più minuta e delicata.

Migliore speranza ho riposto nell'indagine fisico-chimica, e su questa via ho indirizzato altre ricerche che mi permetteranno di controllare e confermare quelle che pubblico in questa nota. Dalle modificazioni dei parametri delle soluzioni o autolisati che ottengo dai cuori, conoscerò indirettamente se le sostanze hanno subito dei cambiamenti nella loro costituzione.

Per ora queste mie ricerche si basano esclusivamente sul criterio fisico. Siccome esse hanno come punto di partenza dei criteri biologici bene assodati, che ho esposto nell'introduzione di questo lavoro, credo di potere, dalla cambiata affinità delle miofibrille per la colorazione, concludere che la sede dei fenomeni farmacodinamici delle sostanze studiate può essere nella parte anatomica modificata e che in queste modificazioni potrebbero trovare riscontro i cambiamenti prodotti da questi alcaloidi nella funzione cardiaca.

Con ciò io non escludo l'azione, dimostrata dagli AA. che mi hanno preceduto, che questi alcaloidi esercitano sull'innervazione intrinseca del cuore.

Io non ho dati per affermare se i reperti che ho descritti nelle miofibrille sono secondarii ad un'azione del farmaco sull'innervazione intrinseca del cuore, o sono dovuti ad un'azione concomitante su questa e sulle fibre. Comunque siano le cose, sia che il farmaco agisca in un primo tempo sui centri (gangli) nervosi e sulle terminazioni nervose e da queste si partano stimoli anormali che modificano il trofismo

delle miofibrille, sia che il farmaco esplichi una azione contemporanea, il che è più probabile, sù entrambi questi elementi i quali sono uniti tra loro da rapporti tanto intimi che è impossibile scindere (DOGIEL, EBNER, HEIDENHAIN), il certo è che le miofibrille presentano a noi le modificazioni sopra descritte.

Vediamo ora partitamente come sono state prodotte le modificazioni nella sede anatomica e quale significato noi possiamo dare ad esse. Per ciò fare passerò in rapida rassegna i principali effetti determinati nel cuore da questi farmaci e cercherò di intepretarli a mezzo dei reperti istologici che ho precedentemente esposti.

Pilocarpina-nicotina. — La prima azione di questi farmaci è quella di portare i cuori in un arresto diastolico che può durare anche diversi (1-2) minuti, ed è rapidamente, in ogni tempo, tolto dall'atropina. Poi il cuore ricomincia a battere apparentemente normale. In questo secondo stadio la stimolazione del vago resta senza effetto mentre la stimolazione del seno venoso arresta il cuore in diastole. Di guisa che in primo tempo questi farmaci si comportano come una eccitazione permanente delle terminazioni intracardiache del vago, alla quale, dopo un arresto diastolico più o meno lungo, segue paralisi. Da quanto ho riferito nell'esposizione dei reperti istologici risulta che la stria Z è il primo articolo che presenta modificata la sua affinità per il colore. Infatti, nei cuori arrestati in diastole, essa è scolorita, leggermente turgida, sempre trasversale alla fibra.

I dischi Q in posizione diastolica, turgidi, ben colorati, sono regolarmente disposti in serie come una linea retta regolare (Fig. I).

Siccome la stria Z è ritenuta da numerosi autori essere in relazione diretta di continuità con le fibre nervose è da supporsi che questi farmaci esercitano su di essa in primo tempo un'azione identica a quella che si ottiene con la stimolazione del vago in seguito alla quale la fibra tende a portarsi in diastole e quindi i dischi Q sono costretti a mantenere la posizione di rilasciamento.

Come veramente si eserciti quest'azione non saprei. Constato solo che la stria Z non assume più la colorazione e ne deduco come è modificata la sua struttura così deve essere modificata la sua funzione.

Sulla natura di questi modificazioni possiamo avanzare diverse ipotesi : è probabile che all'inizio dell'azione del farmaco si verifichi nella sostanza cromatica della stria Z un perturbamento qualunque, o di addensamento o di soluzione o di combinazione, per il quale la stria Z lascia passare liberamente, non più frenandolo, lo stimolo inibitorio che continuamente gli arriva dal vago ; oppure di per se stessa inibisce la funzione contrattile della fibra lanciando nel sarcoplasma stimoli diastolici.

Questa modificazione della sostanza cromatica della stria Z è transitoria e dipende dal quantitativo di farmaco che arriva ad essa. Con lo aumentare del reattivo si verifica un nuovo mutamento

molecolare, in seguito al quale il cuore pulsa di nuovo. In questo secondo tempo l'eccitazione attraverso le fibre del vago non arriva più alla miofibrilla, mentre arriva l'eccitazione attraverso il seno venoso. Questo secondo momento dell'azione del farmaco si rileva a noi con modificazioni istologiche abbastanze nette a carico della stria Z completamente scolorita, e dei dischi Q. Essi assumono poco o male il colore, hanno i margini poco netti e la sostanza cromatica è diffusa nella fibra sottoforma di granuletti o zolle più o meno colorate.

Noi possiamo interpretare questo nuovo reperto ammettendo che col progredire dell'azione del farmaco si è verificata nella stria Z una nuova modificazione fisico-chimica tale, sia di soluzione o di condensazione o precipitazione, per la quale lo stimolo nervoso che arriva attraverso il vago trova la strada interrotta o sbarrata, e il farmaco, agendo per il suo accumularsi sui dischi Q e dissolvendone la sostanza cromatica Q nel sarcoplasma, permette che lo stimolo del seno venoso arrivi ancora, o per diffusione, o per vie nervose a noi ignote ma che debbono ramificarsi tra la stria Z e i dischi Q, nella casa del Krause e i dischi Q ne siano influenzati.

Di guisa che, in ultima analisi, l'intimo meccanismo di azione di questi farmaci si ridurrebbe a un mutamento di stato fisico-chimico di parte delle sostanze costituenti la miofibrilla. In un primo tempo questo mutamento di stato colpirebbe la stria Z e farebbe si che lo stimolo nervoso del vago o si propagasse liberamente nella fibra, oppure dalla stria Z si partissero stimoli abnormi di origine locale simili a quelli causati per stimolazione del moncone periferico del vago. In un secondo tempo poi nella stria Z si verificherebbe un nuovo mutamento di stato, e questo paralizzante. Nello stesso tempo verrebbero colpiti i dischi Q e la sostanza cromatica Q e allora, per questo mutamento di stato, in essi si avrebbe la propagazione dello stimolo nervoso che arriva dal seno venoso o per diffusione nella fibra o per propagazione attraverso terminazioni nervose post-gangliari a noi sconosciute ma che debbono andare a finire all'infuori della stria Z e tra questa e i dischi Q.

E che effettivamente debba trattarsi di semplici mutamenti di stato, dovuti al quantitativo del farmaco e più al processo di penetrazione di esso, lo possiamo dedurre dall'esperienze affini dello Straub (14).

Egli notò che se si alimenta un cuore di animale a temperatura variabile con una soluzione contenente muscarina, si verifica l'effetto di questa ultima, però dopo un certo tempo il cuore ricomincia a battere. Allora si può dimostrare che la muscarina contenuta in quel cuore è così abbondante che la sua quantità è sufficiente ad arrestare un altro cuore. Se si aggiunge, ristabilite le pulsazioni, una nuova dose di muscarina al liquido circolante, allora il gioco si ripete, ricompare l'arresto, ma il cuore ricomincia a battere dopo un certo tempo. Ne

risulta quindi, secondo l'A., che non la presenza di una determinata quantità di muscarina nel cuore eccita gli apparecchi inibitori, ma il processo della sua penetrazione, cioè l'aumento della muscarina.

Lo stesso avviene per altre sostanze tossiche ; così, per esempio, per l'azione delle sostanze digitaliche sul cuore, il momento più importante è la fissazione di esse agli elementi sensibili, cioè un mutamento di stato, e non l'aumento di esse nell'atto della loro penetrazione. (GOTTLIEB e MEYER) (15).

Quale può essere questo mutamento di stato?

Non è improbabile che si tratti di precipitati che si sciolgono in eccesso di reattivo (esempio : cloruro mercurico e ioduro di potassio, nitrato di argento e cianuro di potassio) oppure che si formino degli aggregati molecolari diversi a seconda del quantitativo di farmaco che arriva in modo da risultarne corpi nuovi stabili o diffusibili.

Lo stadio di eccitazione corrisponderebbe al momento nel quale si inizia il mutamento di stato (precipitazione o modificazione), lo stadio di paralisi corrisponderebbe allo stato definitivo portato dall'affluire di nuovo farmaco (precipitato, soluzione del precipitato, etc.).

Nel caso nostro è probabile si tratti di soluzione e precipitazione in eccesso di reattivo perchè la sostanza cromatica Q si trova sparsa a granuli e zolle più o meno colorate in tutta la miofibrilla.

Atropina. — Tutti gli effetti causati in primo tempo dalla pilocarpina e dalla nicotina sono prontamente rimossi dell'atropina, il cuore ripiglia a battere, ma la stimolazione del seno venoso e del vago è inattiva, così pure, per somministrazione di sola atropina, rapidamente viene paralizzato tutto l'apparecchio inibitore cardiaco.

Il reperto istologico dato dall'atropina assomiglia a quello che troviamo nelle sezioni di cuori avvelenati con pilocarpina e nicotina nel secondo periodo di azione di questi farmaci, cioè quando i cuori arrestati in diastole cominciano a pulsare di nuovo, varia solamente di grado. Mentre nell'atropina le miofibrille sono quasi tutte scolorite perchè gli articoli degli elementi non hanno preso il colore e la sostanza cromatica e sparsa, a granuli o zolle più o meno tinti, per lo più nella zona sistolica, nella pilocarpina e nella nicotina invece gli articoli degli elementi assumono ancora una colorazione grigia più o meno oscura, talora anche nera, e la sostanza cromatica Q, variamente colorata, è più finemente distribuita nella miofibrilla pure trovandosi a preferenza nelle zone a suo luogo descritte.

Il grado più avanzato di azione presentato dal reperto dell'atropina conferma il reperto offerto dal secondo stadio di azione della pilocarpina e della nicotina : ad una maggiore azione corrisponde una più intensa reazione biologica. I cuori che si trovano sotto l'azione della pilocarpina e della nicotina ripondono ancora all'eccitazione del seno venoso, mentre i cuori atropinizzati non reagiscono più a nessun stimolo.

Nei cuori atropinizzati dunque tutte le vie nervose inibitorie sono interrotte e all'esame istologico questo fenomeno si rileva a noi con la modificata affinità degli articoli verso il colore. La stria Z incolora, leggermente inturgidita mantiene la sua posizione trasversale; i dischi Q incolori a margini poco netti si presentano leggermente vacuolizzati e privi di sostanza cromatica Q; la sostanza cromatica Q, diffusa a granuli nel sarcoplasma o adensata a zolle per lo più nella regione sistolica, assume poco o male una colorazione che va dal giallo a un giallo-grigio-ferro o al nero.

Di guisa che l'azione dell'atropina si esercita a preferenza sulla sostanza cromatica Q.

Quale può essere la natura di questa azione?

Per il fatto che noi vediamo la sostanza cromatica diffondersi nell'elemento cellulale e le case diventare torbide e leggermente granulose possiamo ritenere trattarsi di un processo di solubilizzazione, diffusione e precipitazione della sostanza cromatica Q, il quale processo potrebbe essere l'espressione morfologica dell'azione che l'atropina esercita sul miocardio.

In ultima analisi, l'atropina agirebbe sul miocardio sciogliendo la sostanza cromatica Q e impedendo in tal modo che l'eccitazione nervosa arrivi alla miofibrilla, o dalla miofibrilla stessa si possano partire stimoli inibitori.

Ho parlato di soluzione e diffusione della sostanza cromatica Q e sono arrivato a questa conclusione dal reperto morfologico che essa ci presenta, ma io non escludo che possa trattarsi invece o di semplice trasporto senza modificazione, o di trasporto associato a cambiamenti di stato, o di soluzione e diffusione con consecutiva alterazione o precipitazione.

Definire una questione così importante, senza il sussidio dell'analisi chimica, o almeno fisico-chimica, solo in base ai reperti istologici, non mi pare possibile, tanto più che le nostre conoscenze su questo argomento sono molto limitate.

Una cosa sola posso affermare, ed è che l'atropina modifica lo stato e l'affinità per il colore della sostanza cromatica Q, la quale, con molta probabilità, viene solubilizzata e diffusa nella cellula.

Da ulteriori modificazioni della sostanza cromatica Q nell'elemento potrebbe pure dipendere l'azione eccitante sul cuore che si osserva per forti dosi di atropina, giacchè a questa sostanza Q si attribuisce anche facoltà contrattile, e infatti in seguito alla separazione funzionale dell'apice del cuore (legatura) questo rimane in circostanze ordinarie immobile, in seguito all'atropina però possono comparire pulsazioni spontanee dell'apice, oppure una stimolazione meccanica provoca delle serie di pulsazioni prolungate.

Si tratta qui dell'azione eccitante di dosi di atropina più volte maggiori di quelle che paralizzano completamente l'apparecchio inibitore (16).

Il quadro di azione dell'atropina dunque si stabilisce rapido ed è poco vario perchè il farmaco sin dal suo inizio determina rapidamente modificazioni molecolari intense e durature. Sul modo poi come possiamo supporre avvengano queste modificazioni, rimando a quanto ho detto a proposito della pilocarpina e nicotina.

* * *

Arrivati a questo punto una considerazione si impone, ed è la grande semplicità di mezzi con i quali la natura consegue dei grandi effetti.

Quantità minime di sostanza (è noto che bastano mgr. 0,02 di atropina in 50 $cm.^3$ di liquido circolante per paralizzare le terminazioni intracardiache del vago) determinano un mutamento di stato nella costituzione molecolare di determinati organi, in seguito al quale si ha il cambiamento di funzionalità del tessuto influenzato, e, quando si assomiglia la natura dell'alterazione di funzione, così come è il caso della pilocarpina e nicotina da una parte, e dell'atropina dall'altra, i combiamenti causati dai farmaci nelle sedi di azione ci appaiono con una espressione morfologica simile ma non identica.

Questi mutamenti di stato poi sono modificati da cause minime e basta in genere un aumento, e quindi una nuova penetrazione, della quantità del farmaco circolante per modificare continuamente la funzione di un organo, di guisa che un'alterazione di funzione non dipende solo dalla natura del farmaco e dal quantitativo di esso, ma più forse dello stato molecolare che esso determina.

Queste esperienze confermano ancora una volta i principi che *ogni effetto corrisponde ad una modificazione fisico-chimica delle sedi fisiologiche di azione e che alle differenze nella sensibilità delle diverse sedi di azione segue la successione delle singole modificazioni funzionali.*

CONCLUSIONI.

Da quanto ho sopra esposto risulta :

1° Gli alcaloidi studiati nell'esplicare la loro azione apportano modificazioni nelle miofibrille le quali variano a seconda dell'alcaloide, e a seconda del quantitativo di farmaco assorbito.

2° A l'inizio dell'azione della pilocarpina o della nicotina, quando cioè si arresta il cuore di rana in diastole, la stria Z si presenta scolorita, leggermente ingrossata, sempre traversale alla fibra ; i dischi Q ben colorati, avvicinati gli uni agli altri; il sarcoplasma leggermente inturgidito.

3° Progredendo l'azione della pilocarpina o della nicotina, quando cioè il cuore arrestato in diastole pulsa di nuovo, si notano modifica-

zioni intense a carico della stria Z, dei dischi e della sostanza cromatica Q. La stria Z è incolora; i dischi Q leggermente sfrangiati, finemente vacuolizzati assumono una tinta che va dal giallo al grigio-ferro al nero. La sostanza cromatica Q è sparsa nell'elemento sottoforma di granuletti o zolle più o meno colorati.

4° Sotto l'azione dell'atropina si trova nelle miofibrille un reperto simile a quello del secondo stadio di azione della pilocarpina o della nicotina, ma più intenso è spiccato. La miofibrilla assume una tinta gialla o violacea e presenta le strie Z incolori, i dischi Q sfrangiati, vacuolizzati, tinti da giallobruno al nero-grigiastro. La sostanza cromatica Q è sparsa nell'elemento sotto forma di granuli, di varia dimensione e di vario colore, e di zolle più o meno colorite, addensate per lo più nella zona sistolica.

5° Le modificazioni istologiche studiate, essendo in relazione coi fenomeni farmacodinamici spiegati da questi alcaloidi, possono ritenersi l'espressione morfologica della loro azione sulle miofibrille; lasciano però insoluta la questione se la loro azione si esplica in primo tempo sull'apparato nervoso o sull'apparato nervoso e muscolare contemporaneamente.

6° Dovunque si eserciti in primo tempo l'azione di questi farmaci, le modificazioni, da me messe in evidenza nelle miofibrille, ci permettono sino a un certo punto di farci un concetto, che ho esposto sottoforma di ipotesi nel corpo della nota, dell'intimo meccanismo della loro azione in attesa che ulteriori ricerche ci illuminino meglio.

BIBLIOGRAFIA.

(La bibliografia è strettamente limitata alle opere citate o che hanno attinenza con queste ricerche).

1° SCHMIEDEBERG, *Ber. d. Kgl. sächs. Ges. d. Wiss. Math.-Phys.* Cl. XXII (1870), S. 130.

2° E. HARNACK u. H. MEYER, Untersuchungen über die Wirkungen der Jaborandi. Alkaloïde nebst Bemerkungen über die Gruppe des Nicotins. *Arch. f. exp. Path. u. Pharn.*, 1880, Vol. XII, p. 366.

3° E. HARNACK u. HAFEMANN, citato da Gaglio. *Farmacologia*. u. e.

4° LANGLEY a. ANDERSON, *Journ. of. Physiol*, 1895, Vol. 19, p. 139.

5° A. HERZEN, *Interm. de Biol*, 1898, 15. — I. IOTEYKO, *Inst. Solvay*. Trav. IV, 1901.

6° L. TOCCO, Modificazioni strutturali determinate dai cardiocinetici sugli elementi delle miofibrille. *Arch. Inter. de Pharm. et de Ther.* Vol. XXVII, pag. 415.

7° VAS, Zur Kenntniss d. chron. Nicotin u. Alc. Vergift. *Arch. f. exper, Path. u. Pharmak.*, v. 33, p. 141.

Vedi pure gli altri lavori citati da:

8° L. DEUTSCH u. B. KONRAD, Ueber die Wirkung einiger Herzgifte auf die Herzgangliem. *Arch. Inter. de Pharm. et de Thérap*, v. IV, p. 375.

9° C. v. OTTO, Ueber anatomische Veränderung des Herzens infolge von Nicotin. *Arch. f. path. Anat. u. Physiol.* CCV, 1911.

10° G. VINCI, Appunti di tecnica istologica del rene. *Bull. Soc. fra i Cult. delle Scien. Med. e Nat, in Cagliari*, 1915.

11° L. TOCCO, Contributo alla conoscenza della fine struttura reticolo-filamentosa delle emazie. *Arch. di Fisiol.* v. XIII, 1915. — Vedi pure il lavoro sopra citato (6).

12° S. GUTHERZ, Zur Histologie der quergestreiften Muskelfasern insbesondere über deren Quersschnittbild bei der Kontraktion. *Arch. f. mikros. Anat.*, 75, 1910.

HÜRTHLE, Ueber die Struktur der quergestreiften Muskelfasern von Hydrophilus in ruhenden und tätigen Zustand. *Arch. f. gesam. Physiol.* 126, 1909.

E. B. MEIGS, Ob die fibrillen der quergestreiften Muskeln ihr Volum während der Kontraktion verändern? *Pfluger's Arch. f. d. gesam. Physiol.*, 158, 1914.

13° L. TOCCO, l. c. (6).

14° STRAUB, *Pfluger's Arch.*, 1907, vol. 119; pag. 127.

15° H. MEYER u. R. GOTTLIEB. *Farmac. Sperim.* 1915.

16° HEDBOM, *SK. and Arch. f. Physiol.*, 1899, Vol. 9, p. 1. — LUCHSINGER, *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1881, vol. 14, p. 376.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. UNIVERSITA' DI MESSINA.

(DIRETTORE : GAET. VINCI.)

Sulle cause che modificano la reazione della strofantina, praticata facendo agire l'acido solforico, nei semi invecchiati

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

... il kombi potrà essere un utile rimedio.
LIVINGSTONE.

—

INTRODUZIONE.

Nel 1915 BALDONI faceva osservare che la brillante reazione verde smeraldo che l'acido solforico dà sui semi di strofanto di fresco ricevuti dal commercio, diveniva meno manifesta ed anche negativa negli anni successivi. Essendo egli convinto che la reazione eseguita sul seme con acido solforico dia un buon criterio per giudicare della bontà del seme volle ricercare se vi fossero concentrazioni particolarmente adatte per dare una buona reazione anche quando il seme incomincia ad invecchiare e, con una serie di ricerche sistematiche fatte con acido solforico diluito alle concentrazioni da 90 a 60 %, venne alla conclusione :

Che non si può stabilire quale sia la concentrazione più adatta per avere una reazione positiva, tuttavia é da ritenere che l'a. solforico concentrato e quello a 90% siano capaci di determinare colore verde solo in pochi semi, mentre l'a. solforico a 80-70 % dà reazioni positive e brillanti anche in quei semi in cui le soluzioni più concentrate o più diluite di acido solforico sono riuscite inadatte e che non si può dire a priori quale, fra l'a. solforico a 70% e quello ad 80 %, debba preferirsi perchè egli ottenne maggiore quantità di reazioni positive ora con l'una ora con l'altra concentrazione, quello invece che egli può asserire con sicurezza è che, quando si vuole una reazione che tolga il dubbio, è più opportuno fare la ricerca sull'endosperma che sul seme spaccato o sull'embrione isolato. In

molti casi in cui la reazione nel seme spaccato o sull'embrione si è mostrata incerta, l'endosperma ha dato risultato netto e sicuro.

Baldoni osservò pure che la luce ed il sole alterano la capacità di dare una reazione brillante più nell'embrione che nell'endosperma.

Queste ricerche del Baldoni sono del più grande interesse giacchè pur ammettendo, come sostengono FRAENKEL e SCHWARTZ che la reazione coll'a. solforico non sia in grado di darci un criterio della quantità di strofantina contenuta nel seme, si può dare, con molta probabilità di sicurezza,un giudizio se il seme di strofanto ricevuto dal commercio sia S. hispidus o S. Kombé, tenendo però presente che, chi si volesse basare solo sulla reazione con a. solforico per trarre un giudizio sicuro sulla genuinità del seme, commetterebbe un errore, essa acquista importanza quando contemporaneamente nel seme esistono tutti gli altri caratteri della droga officinale.

Il riconoscere a quale specie si strofanto appartiene il seme che si riceve dal commercio, scrive giustamente Baldoni, ha il più grande interesse pratico, perchè il principio attivo, denominato strofantina da Fraser prima che fosse isolato, si riscontra non in tutte le specie di strofanto ed in quelle in cui esiste non è identico, ma varia per composizione chimica e per attività fisiologica, pure rimanendo questa fondamentalmente la stessa.

Ecco la necessità, conclude BALDONI, di sincerarsi che il seme sia quello consigliato dalla farmacopea perché, per l'esperienza passata, si è sicuri di quella data attività, mentre l'uso di altri semi potrebbe fare rimanere delusi sull'effetto terapeutico per mancata efficacia, oppure preoccupati per una azione troppo energica.

Nessuno invero dubita della necessità di riconoscere il seme, ma sta di fatto che la reazione coll'a. solforico, se è della più grande importanza, non pare che sia delle più dimostrative.

Vi sono AA. infatti che dubitano della sua importanza e per lo stesso BALDONI ha valore quando contemporaneamente nel seme esistono tutti gli altri caratteri della droga officinale.

Se poi scorriamo gli autori che si sono occupati di questo argomento troviamo che, se è vero che quasi tutti ammettono che i semi dello S. KOMBÉ e la strofantina da essi estratta danno reazione verde con a. solforico, è pur vero che altri (HEFFTER e SACHS) trovano la stessa reazione nei semi di S. hispidus ed in quelli di S. Schuchardtii.

La farmacopea americana inoltre accenna al fatto, secondo me importantissimo, che i semi, pure essendo della stessa specie di strofanto, *anzi dello stesso frutto*, possono dare reazioni differenti con questo reattivo.

A tutto questo si aggiunga finalmente l'osservazione esattissima fatta dal BALDONI, e che chiunque può controllare, che la reazione diventa meno manifesta ed anche negativa con l'invecchiare dei semi.

Di guisa che se da una parte gli AA. riconoscono che la reazione con acido solforico è della più grande importanza dall'altra sono concordi nel non ritenerla specifica e nell'ammettere che spesso manca.

Potrebbe sembrare a priori che noi potessimo garantirci meglio nell'impiego di una sostanza così pericolosa se usassimo un farmaco di azione costante, come può essere il principio attivo.

Ma sta di fatto invece che le Case produttrici sotto il nome generico di strofantina mettono in commercio un prodotto senza indicare da quale seme sia stato ottenuto, e che pur rivolgendosi alla stessa fabbrica non sempre si è sicuri che la strofantina sia sempre ricavata da uno stesso seme.

Heffter per esempio, ha colorazione puro verde trattando una strofantina della Casa SCHUCHARDT con a. solforico, BALDONI invece, con una strofantina della stessa Casa, ha colore nettamente bruno; FEIST ha reazione rossa con una strofantina di MERCK, BALDONI l'ottiene verde smeraldo, io stesso possiedo da 12 anni una strofantina MERCK che con l'a. solforico da una brillante reazione verde smeraldo.

Pazienza se col cambiare della reazione non cambiasse la attività! Invece la tossicità cambia da strofantina a strofantina, ed oscilla, secondo Thoms, da una tossicità nel coniglio per Kg. da gr. 0,0006 per la K. — strofantina a gr. 0,003 per la pseudo-strofantina.

Questo disaccordo che si osserva sulle reazioni e sull'azione dei diversi semi e delle diverse strofantine da che cosa proviene?

BALDONI crede che stia in relazione col fatto che nella preparazione delle strofantine del commercio non si tiene conto di riconoscere prima a quale specie di strofanto appartengano i semi che vengono trattati per l'estrazione, e che i principii attivi vengano estratti probabilmente da miscugli di semi di varia specie ed in proporzione non costante.

A me pare però che, siccome i semi invecchiando perdono la reazione verde caratteristica con l'a. solforico, e diminuiscono un poco la loro attività, queste differenze di reazione e di azione dei diversi semi e delle diverse strofantine potrebbero pervenire, oltre che dalle ragioni espresse, pure dal fatto che nelle fabbriche verrebbero usati semi più o meno invecchiati.

E se ciò fosse, allora le cause di tutte queste differenze non dovremmo ricercarle nei semi stessi?

* * *

Le esperienze che comunico in questa nota hanno presso spunto da una osservazione da me fatta.

Nel 1911 il nostro Istituto acquistò dalla CASA MERCK un campione di semi di STROPHANTUS KOMBÉ e della strofantina pura.

La strofantina e le sezioni dei semi, trattate con a. solforico, davano una magnifica reazione verde smeraldo. Col tempo questa reazione andò attenuandosi nei semi e nel 1914 era appena manifesta.

La guerra mi allontanò dagli studi e non potei riprendere queste ricerche che dopo il mio congedo.

Attualmente, dopo 12 anni, il seme, trattato con a. solforico 80 % secondo il metodo BALDONI, dà un colore rossastro nell'embrione e nell'endosperma, la strofantina un bellissimo colore verde smeraldo smagliante.

Io mi sono chiesto: quali ragioni possono aver determinato questo cambiamento di reazione nella droga? Non la luce, perchè la droga e la strofantina erano esposte vicino nella stessa vetrina; non sviluppo di muffe od altro nei semi, perchè essendo mescolati a qualche cristallino di timolo, si conservarono in modo meraviglioso.

Partendo quindi dal concetto che le cause di questa modificazione, dovrebbero probabilmente trovarsi nel seme stesso ho fatto una serie di esperienze per avvalorare questa mia ipotesi.

Le mie fatiche furono coronate da successo. I risultati che ho ottenuto sono stati sempre così costanti e persuasivi, che ritengo cosa utile pubblicarli.

PARTE SPERIMENTALE

Sostanze usate. — Ho sperimentato con semi di STROPHANTUS KOMBÉ acquistati dalla Casa MERCK nel 1911 e con strofantina MERCK purissima U. S. P. VIII acquistata nella stessa epoca.

I semi di strofanto, usando tutti i dettagli tecnici consigliati da BALDONI, assumono con a. solforico 80 % e dopo 3' una colorazione rosso sbiadita; la strofantina invece dà una bella colorazione verde smeraldo.

Tecnica generale. — Ho sperimentato separatamente sulle diverse parti che costituiscono il seme usando una tecnica semplicissima per separarle.

I semi di strofanto scelti vengono posti in acqua tiepida (40°) per un quarto d'ora.

Incidendo con la punta di una pinzetta la buccia, dalla parte opposta dell'embrione, e sprizzando dolcemente il seme tra le dita, si spreme l'embrione avvolto nell'endosperma.

Si incide l'apice dell'endosperma dalla parte opposta all'embrione, si sprizza tra le dita e si fanno saltare i cotiledoni con l'embrione.

La buccia, l'endosperma, i cotiledoni con l'embrione (per comodità di descrizione chiamerò anch'io, come fece il BADONI, quest'ultima parte embrione) quasi intatti venivano posti in piccoli pesa-filtri separati.

In ogni pesa-filtro si aggiungeva cm^3 2,5 di soluzione di strofantina al 0,5 %.

Siccome a Messina d'estate si hanno notevoli sbalzi di temperatura, ho tenuto i pesa-filtri e la soluzione di strofantina in termostato a 30° ed ho aggiunto ad ogni recipiente un cristallino di timolo per evitare lo sviluppo di muffe.

Ogni 12 ore prelevavo, con bacchetta di vetro, da ogni recipiente una goccia di liquido e la portavo a secchezza a 30° sul fondo di una capsula di porcellana.

La reazione si praticava versando sul residuo qualche goccia di acido solforico purissimo a 80 % in modo da coprire bene il fondo della capsula. Non ho mai agitato. Noto che l'acido solforico impuro per traccie di sostanze organiche, acido nitrico ecc. dà reazioni poco belle.

ESPERIENZE.

Siccome le numerose esperienze fatte sono tutte concordanti, per non annoiare il lettore, riporto un solo protocollo per ogni gruppo di esperienze.

ESPERIENZA I.

16-5 *Ore* 8.

Venti semi di strofanto bene scelti si dividono col metodo sopra indicato in buccia, endosperma, embrione.

Ogni parte viene posta in pesa-filtri separati, si aggiungono cm^3 2,5 di soluzione di strofantina e si mette tutto in termostato a 30°.

Ore 20. Si preleva da ogni recipiente una goccia che essiccata a 30° sul fondo di una capsula di porcellana viene trattata con acido solforico a 80 %.

Soluzione. Verde smeraldo bellissimo — 3′ verde smeraldo cupo — 9′ verde cupo — 15′ verde — 30′ verde.

Buccia. Verde inglese — 2″ verde veronese — 9′ verde chiaro — 15′ verde giallastro — 30′ giallo bruno.

Endosperma. Verde smeraldo — 2′ verde smeraldo cupo — 9′ verde cupo — 15′ verde — 30′ verde.

Embrione. Verde inglese che passa subito al verde veronese — 9′ verde chiaro — 15′ verde giallastro — 30′ giallo — brunastro.

(N. B. Il tempo è notato in continuazione.)

17 *Giugno ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 3′ verde cupo — 5′ verde brunastro — 15′ verde bruno — 21′ verde giallastro — 40′ verde chiaro — Tale si mantiene dopo tre ore.

Buccia. Giallo foglia secca — 1′ verde foglia secca — 6′ giallo rossastro — 12′ giallo sbiadito.

Endosperma. Verde smeraldo intenso — 2′ verde cupo — 7′ verde giallastro — 13′ giallastro — 17′ giallo verdastro sbiadito — 33′ verdastro sbiadito.

Embrione. Verde bruniccio — 1′ verde bruno — 7′ bruno rossastro — 13′ rossastro — 17′ rossastro sbiadito — 20′ violaceo pallido che diventa sempre più intenso.

Ore 20. *Soluzione*. Come sopra.

Buccia. Giallo foglia secca — 6′ giallo rossastro — 15′ giallo pallido.

Endosperma. Come sopra.

Embrione. Verde bruno — 2′ bruno rossastro — 7′ rossastro — 15′ rosso violaceo.

18 *Giugno ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 2′ verde smeraldo pallido — 4′ verde giallastro — 8′ verde pallido — 23′ verde tenue.

Buccia. Giallo foglia secca — 7′ giallo pallido — 25′ giallo tenue.

Endosperma. Verde smeraldo — 3′ verde bruno — 6′ verde bruno giallo — 23′ verde bruno giallastro pallido.

Embrione. Giallo foglia secca — 3′ giallo bruno — 4′ giallo rossastro — 7′ rossastro — 10′ rosso — 23′ violaceo.

Ore 20 *Soluzione*. Come sopra.

Buccia. Giallo bruniccio — 2′ bruno — 15′ bruno giallo — 30′ giallo pallido.

Endosperma. Come sopra.

Embrione. Giallo bruno — 2′ giallo rossastro — 15′ giallo rosso — 30′ rosso — 40′ rosso violaceo.

19 *Giugno ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 2′ verde bruno — 6′ verde — 34′ verde chiaro.

Buccia. Bruniccio foglia secca — 2′ bruno sbiadito — 6′ giallastro — 9′ giallo pallido — 34′ scolorito.

Endosperma. Verde smeraldo — 2′ verde bruno — 6′ verde cupo — 9′ verde intenso — 34′ verde azzurro.

Embrione. Giallo rossastro — 2′ giallo rosso — 6′ rosso — 9′ rosso violaceo — 34′ violaceo.

Ore 20 *Soluzione*. Come sopra.

Buccia. Giallo foglia secca — 2′ giallo bruno — 15′ giallo rossastro.

Endosperma. Come sopra.

Embrione. Come sopra

20 *Giugno ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 2′ verde smeraldo cupo — 6′ verdo cupo — 15′ verde — 21′ verde — 33′ verde chiaro.

Buccia. Giallo foglia secca — 2′ giallo bruno — 6′ giallo rossastro — 15′ giallo rossastro sbiadito — 21′ rossastro sbiadito — 33′ rossastro sbiadito.

Endosperma. Verde smeraldo — 2′ verde cupo — 6′ verde bruno — 15′ verde bruno rossastro — 21′ verde rossastro — 36′ verde rossastro.

Embrione. Giallo rossastro — 1′ rosso bruno — 6′ rosso arancio — 15′ rosso — 21′ rosso — 33′ rosso sbiadito.

Ore 20. *Soluzione*. Come sopra.

Buccia. Come sopra.

Endosperma. Come sopra.

Embrione. Giallo bruno rossastro — 2′ bruno rossastro — 15′ rossastro.

21 *Giugno Ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 2′ verde smeraldo cupo — 9′ verde smeraldo — 15′ verde — 30′ verde.

Buccia. Giallo foglia secca — 2′ giallo brunastro — 9′ giallo brunastro sbiadito — 15′ giallo sbiadito.

Endosperma. Verde smeraldo — 2′ verde cupo — 9′ verde cupo giallastro — 15′ verde giallastro — 30′ verde.

Embrione. Giallo foglia secca rossastro — 2′ giallo rossastro — 9′ giallo rosso — 15′ rossastro — 30′ rosso.

Ore 20 *Soluzione*. Come sopra.
Buccia. Giallo brunastro — 2' giallo bruno — 15' giallastro.
Endosperma. Come sopra.
Embrione. Giallo bruno — 2' giallo bruno rossastro — 15' giallo rosso — 30' rosso.

Dalle mie ricerche risulta evidente che la reazione caratteristica della strofantina con acido solforico, mentre si mantiene inalterata per lo spazio di cinque giorni nella soluzione di strofantina e endosperma, manca dopo 24 ore nella soluzione di strofantina mescolata con buccie ed in quella mescolata con embrioni di semi.

Nell'endosperma che avvolge l'embrione si devono trovare condizioni di ambiente tali da conservare la strofantina inalterata per molto tempo.

Questo fatto conferma le ricerche fatte da BALDONI sui semi invecchiatti. Egli infatti consiglia, per identificare i semi di strofanto, di fare la reazione meglio sull'endosperma che sul seme spaccato o sull'embrione isolato, e scrive testualmente: « In molti casi « in cui la reazione sul seme spaccato o sull'embrione si è mostrata « incerta, l'endosperma ha dato risultato netto e sicuro ».

Nella buccia e nell'embrione invece deve esistere una sostanza che è capace dopo 24 ore di modificare la reazione della strofantina coll'a. solforico e questa sostanza deve essere contenuta in maggior quantità nella buccia, in minor quantità nell'embrione.

Mentre infatti la soluzione di strofantina mescolata con gli embrioni reagisce col tempo rossa all'acido solforico, quella mescolata con le buccie presenta reazione rossa solo dopo le 24 ore, poi non più.

Concludendo io credo di poter asserire che *nella buccia e nell'embrione di semi di strofanto Kombé vecchi di* 12 *anni esiste una sostanza attiva capace di modificare in* 24 *ore ed alla temperatura di* 30°, *la reazione verde caratteristica che la strofantina* MERCK *da me posseduta dà quando è trattata con acido solforico.*

Questa sostanza manca nell'endosperma.

* * *

Stabilito che nella buccia e nell'embrione di seme di strofanto KOMBÉ esiste una sostanza capace di alterare in poco tempo la reazione verde caratteristica della strofantina trattata con a. solforico, era interessante indagarne la natura.

A questo scopo ho fatto una serie di ricerche con semi di strofanto riscaldati a 100° in stufa e con semi di strofanto bolliti in acqua per cinque minuti.

I risultati di queste ricerche mi avrebbero permesso ad un tempo di controllare le esperienze precedenti e di indagare la natura della sostanza attiva.

Sicome i risultati sono stati sempre concordanti, per amore di brevità, riporto due sole esperienze.

ESPERIENZA II.

19 *Giugno*. *Ore* 8. Venti semi vengono posti in stufa a secco e riscaldati a T di 100° per mezz'ora, e, dopo raffreddamento, vengono divisi in buccia, endosperma, embrione. Ogni una delle tre parti del seme viene posta in pesa-filtro separato, vi si aggiunge cm^3 2,5 di soluzione di strofantina 0,5 % e il tutto si mette in termostato a 30°.

Ogni dodici ore si pratica sopra una goccia di soluzione di strofantina, prelevata come si è già detto altrove, la reazione con a. solforico. 80 %.

Ore 20. *Soluzione*. Verde smeraldo — 3′ verde cupo — 9′ verde — 15′ verde pallido — 21′ verde giallastro — 30′ verde chiaro.

Buccia. Verde smeraldo — 3′ verde bruno — 6′ verde giallastro — 9′ verde giallo cupo — 15′ verde giallo pallido — 21′ giallo verdastro — 30′ giallo bruno verdastro.

Endosperma. Verde smeraldo — 3′ verde cupo — 9′ verde — 15′ verde giallastro — 30′ verde giallo.

Embrione. Verde smeraldo — 3′ verde cupo — 15′ verde — 30′ verde.

20 *Giugno Ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 3′ verde cupo — 15′ verde — 30′ verde chiaro.

Buccia. Verde smeraldo — 3′ verde cupo — 15′ verde giallastro — 30′ giallo verdastro.

Endosperma. Verde smeraldo — 3′ verde cupo — 15′ verde giallastro — 21′ verde giallo — 30′ verde giallo.

Embrione. Verde smeraldo smagliante — 3′ verde smeraldo cupo — 9′ verde smeraldo cupo — 15′ verde smeraldo — 21′ il fondo in verde smeraldo, l'a. solforico in violaceo — 30′ verde violaceo.

Ore 20 *Soluzione*. Idem come sopra.

Buccia. Idem come sopra.

Endosperma. Idem come sopra.

Embrione. Colore verde smeraldo smagliante che degrada lentamente verso un verde smeraldo bluastro.

21 *Giugno Ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 7′ verde smeraldo cupo — 15′ verde cupo — 30′ verde giallastro.

Buccia. Verde smeraldo — 2′ verde cupo — 9′ verde cupo giallastro — 15′ verde giallo cupo — 30′ giallastro.

Endosperma. Verde smeraldo — 7′ verde smeraldo cupo — 15′ verde cupo — 30′ verde cupo giallastro.

Embrione. Verde smeraldo bluastro smagliante — 7′ verde cupo bluastro — 15′ verde bluastro il fondo, l'a. solforico in rossastro — 30′ verde bleu rossastro.

Ore 20. *Soluzione* — *Buccia* — *Endosperma* — *Embrione*. Idem come sopra.

22 *Giugno Ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 3′ verde smeraldo cupo — 15′ verde cupo — 30′ verde.

Buccia. Verde — 3′ verde grigio cupo — 15′ verde giallastro — 30′ verdastro.

Endosperma. Verde smeraldo — 3′ verde smeraldo cupo — 15′ verde cupo — 30′ verde giallo cupo.

Embrione. Verde smeraldo smagliante — 2′ verde smeraldo bluastro — 15′ verde bleu rossastro — 30′ bleu rossastro.

Ore 20. *Soluzione* — *Buccia* — *Endosperma* — *Embrione*. Idem come sopra.

23 *Giugno Ore* 8.

Soluzione. Verde smeraldo — 3' verde smeraldo cupo — 15' verde cupo —. 30' verde.

Buccia. Verde grigio cupo — 3' verde giallo — 15' verdastro — 30' verde sbiadito

Endosperma. Verde smeraldo — 3' verde smeraldo cupo — 15' verde cupo — 30' verde giallo cupo.

Embrione. Verde smeraldo smagliante — 2' verde smeraldo bluastro — 15' verde bleu rossastro — 30' bleu rossastro.

Ore 20. *Soluzione* — *Buccia* — *Endosperma* — *Embrione.* Idem come sopra.

ESPERIENZA III.

19 *Giugno ore* 8. Venti semi scelti vengono separati in buccia, endosperma, embrione Ogni parte viene bollita a ricadere separatamente per 5' in 10 cm^3 di acqua distillata. Si decanta. Le diverse parti del seme, asciugate su carta bibula, vengono poste ciascuna in pesa-filtri separati e ad ognuna si aggiunge cm^3 2,5 di soluzione di strofantina.

Ogni 12 ore si saggia la reazione della soluzione di strofantina con la tecnica indicata.

Queste ricerche furono praticate per 5 giorni. Non riporto i protocolli delle reazioni perchè i risultati furono identici a quelli dati dai semi essicati a 100° per mezz'ora.

Dalle mie ricerche si deduce : Le diverse parti dei semi di STROFANTO KOMBÉ vecchi di 12 anni, bollite per 5 minuti in acqua distillata o essiccate mezz'ora alla T. di 100° in stufa a secco, mantengono inalterata la reazione con acido solforico della soluzione di strofantina che ad esse viene aggiunta.

La sostanza che modifica quindi la reazione e che si trova nella buccia e nell'embrione viene distrutta alla temperatura di 100°.

Credo interessante mettere in evidenza un fatto. La reazione con a. solforico della soluzione di strofantina mescolata con embrioni essiccati à 100° per mezz'ora, dopo 24 ore di permanenza in termostato a 30°, diventa più intensa, più bella, e più caratteristica di quello che non sia la reazione della soluzione controllo. Essa acquista quel colore verde smeraldo smagliante o verde bleu smeraldo lucentissimo che rende questa reazione tanto simpatica all'occhio e che si ha talvolta nei semi ricevuti di fresco.

Meno bene la reazione si conserva nella soluzione di strofantina mescolata alle buccie. Dopo tre giorni si ha un colore verde grigio che passa presto al verde paglierino. Credo ciò dovuto a piccole porzioni di peli che, liberatisi nel liquido, disturbano la reazione. Infatti se si preleva la goccia, senza agitare il recipiente, la reazione è più chiara. Col tempo però la reazione si attenua sempre più.

CONSIDERAZIONI.

Da quanto ho sopra esposto risulta evidente che nei semi di S. KOMBÉ, vecchi di 12 anni, e solo nella buccia e nell'embrione, esiste una sostanza che ha la proprietà di fare scomparire, dopo

24 ore circa di contatto a 30°, la reazione verde smeraldo che la strofantina Merck da me usata dà con acido solforico a 80 %.

Questo fenomeno, da me messo in evidenza, è confermato dal fatto, che, se i semi si bollono per 5' o si essiccano a 100° per mezz'ora, la reazione della strofantina non solo resta inalterata, ma diventa più chiara, più intensa e più bella nella soluzione a contatto con gli embrioni.

Questo il fatto.

Da quanto ho sopra detto si potrebbe dedurre che la brillante reazione verde smeraldo che l'a. solforico dà sui semi di strofanto di fresco ricevuti dal commercio, divenga meno manifesta ed anche negativa negli anni successivi per una alterazione lenta esercitata da questa sostanza X sul principio attivo.

E' probabile, ma non certo. La dimostrazione si potrebbe avere solo saggiando tratto tratto, per anni successivi, questa reazione su semi di strofanto essiccati à 100° per mezz'ora, e che al momento dell'arrivo reagissero intensamente verde smeraldo con a. solforico.

Il tempo ci dirà se la deduzione che io ho tratto dalle mie esperienze è esatta.

Siccome le specie di strofanto ben note dal punto di vista botanico sono poche, e meno ancora sono quelle studiate dal punto di vista chimico, siccome poi l'attività cambia da specie a specie, come pure cambiano l'attività e la reazione con acido solforico delle diverse strofantine estratte, non sarebbe pure improbabile che tutte le differenze che si osservano nei semi e nelle strofantine, e il disaccordo che regna negli AA., dipendessero dal fatto che questa sostanza X o si trova in maggior copia in una specie di strofanto che in un'altra, o è più attiva in una specie e meno in un'altra.

E se cosi fosse il principio attivo subirebbe delle modificazioni rapide in alcune specie di strofanto, lente in altre specie.

Fornire la prova sperimentale di questa mia ipotesi sarebbe possibile, ma non facile.

Bisognerebbe avere anzitutto semi colti da recente ed una volta avuti i semi bisognerebbe avere caratteri botanici essenziali di sicuro riconoscimento.

Pur troppo però i semi ci provengono da regioni barbare e lontane ed i caratteri essenziali dei semi i botanici non ce li hanno ancora indicati!

Con ciò non voglio dire che sia una cosa impossibile, anzi mi auguro di poter ritornare ben presto su questo argomento in un'altra nota.

Stabilito che nei semi di strofanto KOMBÉ vecchi di 12 anni si trova una sostanza capace di fare scomparire, dopo 24 ore di contatto a T di 30°, la brillante reazione verde smeraldo della strofantina, resta a considerarsi quale possa essere la natura di questa sostanza.

Allo stato attuale delle nostre conoscenze sarebbe azzardato venire a conclusioni generali. Per ora dobbiamo contentarci di ammettere che questa sostanza, la quale viene distrutta alla temperatura di ebollizione, non è improbabile abbia natura enzimatica, in attesa che ulteriori studi ci illuminino in proposito.

Come corollario di queste mie ricerche nasce spontanea una domanda :

L'attività della strofantina si modifica col modificarsi della reazione che essa presenta con l'acido solforico?

Spero poter rispondere esaurientemente a questa domanda in una seconda nota che ho già in corso.

CONCLUSIONI.

Dalle mie ricerche risulta :

1) Nella buccia e nell'embrione di semi di STROPHANTUS KOMBÉ, vecchi da 12 anni, esiste una sostanza attiva capace di fare scomparire, dopo 24 ore e alla T di 30°, la reazione verde smeraldo caratteristica che la STROFANTINA MERCK da me posseduta dà quando è trattata con acido solforico 80 %.

2) La sostanza attiva manca nell'endosperma dei semi.

3) Questa sostanza attiva, che si trova nella buccia e nell'embrione dei semi di S. KOMBÉ, viene distrutta riscaldando i semi alla T. di 100° per mezz'ora.

BIBLIOGRAFIA.

Per la bibliografia rimando all'accurato lavoro di :

A. BALDONI. — Importanza della reazione della Strofantina praticata facendo agire l'acido solforico sul seme di strofanto. *Arch. di Farm. e Scienze aff.* XIX, 1915, Pag. 511.

Per la voce «*endosperma*» da me usata veda il lettore :

BIAGIO LONGO. — *Rivista di Biologia*, v. IV, 1922, pag. 170.

R^O ISTITUTO DI STUDI SUPERIORI DI FIRENZE

CLINICA OSTETRICO-GINECOLOGICA DIRETTA DAL PROF. E. FERRONI.

ISTITUTO DI MATERIA MEDICA DIRETTO DAL PROF. G. CORONEDI,

Contributo allo studio dell' azione farmacoterapeutica di alcuni narcotici, ipnotici, e antispasmodici sull' utero

per

BACIALLI DOTT. LUIGI (1)
(primo assistente
e libero docente).

NICCOLINI DOTT. PIETRO-MARIA (2)
(assistente).

INTRODUZIONE.

Se fra tutte le branche della medicina, la ginecologia è forse quella in cui la Terapia a base di medicamenti chimici è rimasta maggiormente sotto il dominio dell'empirismo, è giusto d'altra parte riconoscere, come ciò sia dipeso dalla difficoltà grande di riportarsi, nell'esperienza farmacologica, a quelle che sono le condizioni fisiopatologiche dell'apparato femminile di riproduzione.

Se a tale considerazione si aggiungano inoltre la difficoltà della tecnica sperimentale, e quel certo apriorismo clinico che, attribuendo incondizionato valore a un determinato numero di farmaci, rende meno attraenti sistematici studî farmacologici su altre svariate sostanze, possiamo spiegarci la relativa scarsità dei lavori farmacologici riguardanti appunto l'azione di alcune serie di medicamenti sull'utero stesso.

Infatti, la maggior produzione scientifica a questo proposito si è svolta nel gruppo degli eccitanti dell'attività motoria, con a capo l'ergotina, perché è apparsa relativamente più facile la constatazione di una risposta a un tale stimolo e perché è più comune certo l'uso dei farmaci di questa catagoria, in paragone di quanto accade per altri rimedî.

Al contrario, ben poco studiato ci sembra il gruppo, altrettanto importante, con azione antagonistica al precedente, quello cioè degli antispasmodici, a cui appartengono e in vario grado partecipano sostanze, che sono descritte fra gli antispasmodici propriamente detti, e che si trovano anche annoverate fra i narcotici e gli ipnotici.

---

(1) Bacialli: Parte clinico-terapeutica.

(2) Niccolini: Parte sperimentale farmacologica.

L'azione antispasmodica è assai bene studiata in rapporto ad altri organi ricchi di muscolatura liscia, specie all' intestino, sul quale, in fin dei conti, lo studio è molto più semplice, perché meno complesse sono le modificazioni fisiologiche, cui può andare incontro: l'intestino od è in periodo di attività, se l'animale ha da poco ingerito del cibo, od in periodo di risposo, se l'animale digiuna. Per l'utero non è così: esso ha dei periodi di attività, di calma, di inerzia (FRANÇOIS), ognuno dei quali può riscontrarsi in utero vergine, in utero gravido (e probabilmente il periodo in cui trovasi la gravidanza non andrebbe trascurato, come non va trascurata l'età specie nell'utero vergine) in utero in puerperio, in utero vuoto: inoltre la stessa sostanza può favorire la contrazione di un utero disposto a contrarsi, ed il rilasciamento di uno che si avvia al riposo (ZANDA); le sostanze che sono note per la loro caratteristica azione eccitante, come l'ergotina, passano inavvertite nel periodo di inerzia, e talora possono causare un vero e proprio rilasciamento: una tale variabilità nelle condizioni di esperimento, variabilità che tutte le nostre indagini possono rimanere insufficienti a diagnosticare caso per caso prima di iniziare l'esperimento, portano a gravi difficoltà nell'apprezzamento dei risultati, e nell'accordarli fra loro.

Un' altra serie di difficoltà consiste nel fatto, che nel campo genitale femminile, forse più che in ogni altro, si riscontrano differenze notevoli individuali, e differenze fra le varie specie animali nelle reazioni ad un medesimo stimolo. Inoltre per quanto si riferisce alla tecnica, è certo di molto vantaggio potere lavorare su tratti di utero isolati dall'animale, non tanto per la difficoltà dei metodi di registrazione dei movimenti di quest' organo in sito--fra i quali metodi è certo uno dei migliori quello di CHIDICHIMO, ed anche l'altro di BARBOUR non molto più semplice, e forse, a nostro avviso, non del tutto privo di cause di errore — quanto per la utilità di isolare tale organo dalle molteplici influenze, che dai singoli nervi sensitivi possono su di esso riflettersi o dipendenti da fattori circolatorî. Ma, se da questo lato lo sperimentare sull' utero isolato è un vantaggio, costituisce dall' altro una condizione, che rende ancor più difficile lo stabilire un raffronto fra ciò che ottiensi sperimentalmente, e ciò che si può aspettare quando i dati rilevati si vogliano applicare alla patalogia od alla clinica.

Siccome d'altronde, ogni studio farmacologico mira, per quanto è possibile, a trarre notizie utili per la pratica, così accingendoci ad una indagine sistematica sull' azione dei principali narcotici, ipnotici ed antispasmodici sull' utero, lo abbiamo fatto tanto più di buon grado, in quanto il nostro studio poteva procedere, fin dove la possibilità lo permetteva, di pari passo con lo studio clinico delle medesime sostanze, e rendere così più utile il lavoro, ed anche più sicuro il resultato delle comuni ricerche, avendo la possibilità di un controllo in condizioni di esperimento affatto diverse.

Non stiamo a descrivere molto per il sottile il metodo di KEHRER usato da noi, che è il più comune, e che è stato applicato anche ultimamente da FRANÇOIS, da PILCHER, DELZELL e BURMAN, da HANZLIK, da CHISTONI, da CHIÒ e da un numero grandissimo di altri autori : si tratta in breve di registrare mediante una leva scrivente la diminuzione o l'aumento di lunghezza di un segmento di utero (o di altro organo) tenuto in bagno di Ringer ossigenato e riscaldato a 38°-40° C. Le sostanze da provare sono in soluzioni del titolo costante del 2 % se il loro coefficente di solubilità permette di raggiungere tale concentrazione, se no viene usata la soluzione satura a freddo : tali preparati vengono addizionati a gocce alla soluzione del bagno a momento opportuno ; il bagno poi ha la capacità di 150 cc., perciò per il dosaggio approssimativo della sostanza in esame basta tener conto del numero delle gocce.

Per considerazioni già esposte da uno di noi (NICCOLINI) in altro lavoro riguardante l' intestino, e che si sono potute confermare in preliminari osservazioni anche per l'utero, si è trovato più conveniente aggiungere nel medesimo bagno successivamente varie sostanze, che sostituire il bagno ogni volta che intendevamo fare agire sul preparato una sostanza diversa. Gli animali da esperimento usati sono stati indifferentemente la cavia (cavia cobaya) ed il topo (mus decumanus), fra i quali non si sono riscontrate differenze apprezzabili di sensibilità : abbiamo tenuto esatto conto delle condizioni fisiologiche dell' utero al momento di sperimentare.

Nella scelta delle sostanze si sono seguite in parte le indicazioni tracciate dall' empirismo clinico, e siccome fra gli antispasmodici più in uso è certamente l'oppio (classificato farmacologicamente fra i narcotici) per questo ci siamo occupati prevalentemente di lui, prima nel suo complesso e poi riguardo ai più importanti principî attivi, sia naturali, sia ottenuti per via sintetica; come preparato totale, anziché usare l'oppio tale quale è, ci fiamo serviti del *Narcopon*, che rappresenta la totalità degli alcaloidi della droga nelle stesse reciproche proporzioni in cui si trovano nell' oppio. Gli alcaloidi sperimentati sono : *Morfina, Codeina, Dionina, Peronina, Tebaina, Eroina, Papaverina, Narcotina, Narceina*, alcuni dei quali si sono provati più per stabilire un confronto per l'affine costituzione, che non perchè potesse anche lontanamente pensarsi a qualche efficacia nel campo che ora studiamo. Infine riferiamo i resultati ottenuti con altre sostanze, che per la terapia ginecologica potrebbero rientrare nel gruppo delle antispasmodiche, quali il *Cloralio idrato*, la *Paraldeide*, il *Bromuro di Sodio*, il *Validolo*.

Per quanto riguarda l'oppio abbiamo creduto spianare un poco le difficoltà relative alla interpretazione delle esperienze, tenendo in molto conto le somiglianze e le diversità che esistono nella costituzione molecolare di tali alcaloidi : differenza che possono riferirsi al nucleo base comune a tutto un gruppo di sostanze, ovvero alla introduzione o soppressione di aggruppamenti atomici laterali.

Per i principî alcaloidici dell' oppio interessanti osservazioni in tal senso si sono trovate in un lavoro di PAL, in cui viene tenuto conto dei rapporti che intercorrono fra la costituzione chimica e l'azione biologica che tali sostanze sono capaci di svolgere sull' intestino. In tale lavoro si ricorda, come si sia riscontrata incostante l'azione dell'oppio e della morfina sulle fibre longitudinali, mentre più costante sarebbe quella che si svolge sulle circolari : tali osservazioni sarebbero confermate da VON MAGNUS, e in parte spiegate da le constatazioni di POPPER, secondo il quale A., mentre la morfina eccita ambedue gli strati muscolari, l'oppio ed il pantopon eccitano solo il circolare, mentre tendono ad inibire la muscolatura longitudinale : SPÄTER dal canto suo stabilisce che l'eccitazione proviene in generale da tutti i composti del gruppo del fenantrene (tipo morfina), mentre non la dànno quelli del gruppo dell' isochinolina (tipo papaverina, narcotina) : POPPER e FRANKL intanto, in altro lavoro, giungevano ad una conclusione simile, che cioè, l'abbassamento del tono delle fibre muscolari longitudinali data dall' oppio ripeteva la propria origine dai composti della serie isochinolinica in esso contenuti, e tale azione si svolgerebbe su ambedue gli strati muscolari. Effetti che concordano molto con questi sui muscoli lisci ha ottenuti HANZLIK sperimentando sul muscolo cardiaco.

Per brevità tralasciamo di riferire altri lavori destinati a far risaltare lo stretto nesso che esiste fra costituzione ed azione, sembrandoci che la pubblicazione citata di PAL, toccando molto da vicino il nostro argomento, sia fra le più idonee per le successive considerazioni. La costituzione degli alcaloidi dell'oppio è ormai abbastanza conosciuta per potere raggrupparli in due categorie, l'una degli alcaloidi che presentano un nucleo fenantrenico :

Fenantrene $C_{14}H_{10}$:

```
        H
        C
      /   \\
   HC       CH
   ||       |
   HC       C
     \    //  \
       C        CH
       |        ||
       C        CH
     /   \\   /
   HC       C
   ||       |
   HC       CH
     \    //
        C
        H
```

l'altra che comprende quelli con nucleo isochinolinico :

Isochinolina C_9H_7N :

H H
C C
HC C CH
HC C N
C C
H H

Degli alcaloidi presi in esame sei appartengono al primo gruppo, e sono : morfina, codeina, dionina, peronina, tebaina, eroina ; e tre fanno parte del secondo, precisamente : papaverina, narcotina, narceina : ecco le loro formule di costituzione che tolgo dalle opere di GADAMER e di SCHMIDT e GRÄFE :

Morfina. $C_{17}H_{19}NO_3$.

H
C
HO—C CH
C C
C CH_2
O
HC CH
C C N.CH_3
H C CH CH_2
HO C C
H_2 H_2

Codeina (metil-morfina). $C_{18}H_{21}NO_3$.

H
C
$H_3C.O.C$ CH
C C
C CH_2
O
HC CH
C C N.CH_3
H C CH CH_2
HO C C
H_2 H_2

Dionina (etil-morfina). $C_{19}H_{23}NO_3$.

H
C
$C_2H_5.O.C$ CH
C C
C CH_2
O
HC CH
C C N.CH_3
H C CH CH_2
HO C C
H_2 H_2

Peronina
(benzil-morfina).
$C_{24}H_{25}NO_3$.

Tebaina (dimetil-morfina).
$C_{19}H_{21}NO_3$

Eroina (diacetil-morfina)
$C_{21}H_{23}NO_5$

Ecco le formule relative agli alcaloidi del gruppo isochinolinico :

Papaverina (tetra-metossi-benzil-isochinolina). $C_{20}H_{21}NO_4$.

Narcotina (meconin-idro-cotarnina, o metossi-idrastina)

$C_{22}H_{23}NO_7$

```
            H     H2
            C     C
          //  \  /  \                     O—CH3
    O—        C      CH2      CH3.O       C
   /    |     ||      |           \    //   \
H2C     |     ||      |        O   C       CH
   \    |     ||      |        ||  |       ||
    O—C       C      NCH3    O—C—C         CH
       \\   /   \   /        |      \\    /
          C      CH——————————CH——————————C
   CH3—O
```

Narceina

$C_{23}H_{27}NO_8$

```
            H     H2
            C     C
          //  \  /  \                 O.CH3
    O—C       C      CH2              C
   /    |     ||      |            //   \
H2C     |     ||      |          HC       C—O.CH3
   \    |     ||      |  /CH3     |       ||
    O—C       C      N<          HC       C—COOH
       \\   /   \     \CH3         \\    /
          C      C————————————CO————C
   CH3—O         H2
```

PARTE SPERIMENTALE FARMACOLOGICA.

Premesse dunque queste notizie, non mi rimane che riferire le constatazioni emerse dalle prove fisiologiche : precedono le prove eseguite col complesso degli alcaloidi dell' oppio, e seguono poi quelle eseguite coi principî attivi isolati del primo e del secondo gruppo ; ed infine qualche prova fatta con sostanze di natura diversa.

* * *

Narcopon. — Ecco dunque un discreto numero di saggi eseguiti a tale scopo con un preparato che contiene nelle medesime proporzioni reciproche gli alcaloidi dell' oppio nel maggiore stato di purezza possibile a raggiungersi senza separarne il complesso.

Esp. 1. — Cavia di gr. 350 di p. c. — gravidanza iniziale.

Ringer puro = Contrazioni energiche piuttosto rare. Durante una contrazione si applica:

Narcopon (sol. corrisp. al 2 % di morfina) gocce XV = Si ha un rilasciamento progressivo, interrotto da piccole riprese, finché, dopo dieci minuti circa, raggiunge la posizione di riposo.

Ergotina gocce XX = Ampia contrazione, seguita da rapido rilasciamento. Rinnuovata tal dose si ha una nuova contrazione, ma poco dopo l'utero non risponde più affatto, neppure cambiando il Ringer ed aggiungendovi nuova ergotina.

Esp. 2. — Cavia di gr. 400 di p. c. — utero vuoto.

Ringer puro = Contrazioni amplissime, ma rare, durante una fase di completo rilasciamento si applicano:

Ergotina gocce V = Immediatamente energica contrazione. Durante il rilasciamento una nuova applicazione di

Ergotina gocce XV = Provoca la ripresa della contrazione, all'acme della quale

Narcopon gocce XX = Portano quasi subito a rilasciamento completo, seguito da altre contrazioni normali assai rapide, non molto frequenti.

Si è allora cambiato il Ringer e l'utero è entrato subito in tetano, dal quale non è stato possibile toglierlo neppure con L gocce di narcopon; siamo poi rimasti convinti che la contrattura dell' organo era al suo massimo, perché l'aggiunta di nuova ergotina non ha dato aumento di contrazione.

Ciò dimostra ancora una volta quello che in altro lavoro uno di noi ha avuto occasione di sostenere, che cioè gli organi isolati non devono essere mantenuti in esperimento per più di mezz' ora, che il sostituire il bagno dà dei perturbamenti per i quali non può più darsi valore ai resultati offerti, e che questi perturbamenti consistono spesso, se non sempre, nell' esagerazione dell' effetto di uno dei farmaci applicati precedentemente, e sopra tutto di quelli eccitanti, che infine la insensibilità all' azione di qualsiasi ordine di farmaci è da attribuirsi, almeno in buona parte, ad intossicazione dell' organo.

Esp. 3. — Cavia di gr. 230 di p. c. — gravidanza iniziale?

Ringer puro = Contrazioni di piccola ampiezza, ma frequenti: poco dopo però si arrestano, e — dopo qualche tempo di riposo — succede una contrazione ampia del medesimo tipo di quelle riscontrate nelle esperienze precedenti; ad essa segue un rilasciamento completo.

Ergotina gocce V = Provocano un' altra contrazione energica: prima che il suo rilasciamento sia completo applichiamo:

Narcopon gocce X = Che sembra dia un piccolo stimolo, in quanto che la reazione immediata è una piccola ripresa della contrazione, ma poi il rilasciamento si fa completo.

Ergotina gocce I = Causa il consueto effetto.

Esp. 4. — Topo di gr. 320 di p. c. utero gravido con 10 piccoli la cui lunghezza media è di circa 7-8 mm., mentre il diametro dell' uovo è di circa 11 mm. Si usa un tratto di utero contenente due uova lasciate in sito.

Ringer puro = Contrazioni frequenti, assai irregolari quanto all' ampiezza.

Ergotina gocce III = Ampia contrazione.

Narcopon gocce XL in tre volte = Limita la ampiezza delle contrazioni, in compenso però queste si sono fatte molto più frequenti: solo di rado se ne presenta qualcuna più ampia, ma sempre assai inferiore a quelle normali.

Ergotina gocce XXX = Provoca una contrazione di poco più ampia delle altre. Ripetuta poco dopo un' altra applicazione con una dose assai forte, non si è ottenuto più effetto alcuno.

Esp. 5. — Topo di gr. 150 di p. c., utero vergine (Fig. 1).

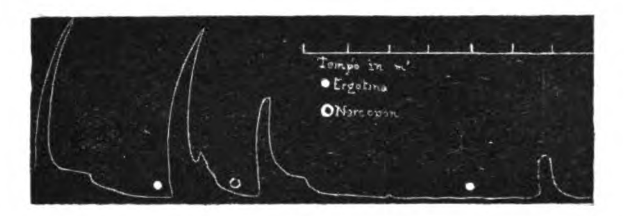


Fig. 1.

Ringer puro = Contrazioni mediocri.

Ergotina gocce V = Riposta assai energica.

Narcopon gocce VIII = E' seguito da una contrazione meno ampia delle precedenti, e poi si ha l'arresto completo di ogni movimento.

Ergotina gocce XXX ripetute due volte = Dà ogni volta una contrazione assai piccola, in cui il tempo di latenza fra il momento di applicazione, e quello di reazione è assai più lungo del consueto

Risulta dunque, che il narcopon provoca rilasciamento della muscolatura uterina, spesso immediata, ma più spesso dopo un tempo di latenza variabile : il prolungarsi di questo si osserva facilmente, quando si ricorra alla stimolazione artificiale mediante ergotina : la durata del rilasciamento non suole protrarsi per lungo tempo.

* * *

Morfina. — Questo alcaloide, che per lungo tempo è stato ritenuto dai più come l'unico principio attivo dell' oppio, è anche quello che più largamente è stato studiato ; non mancano quindi anche lavori importanti al riguardo della sua azione sull' utero. Per limitarci a ricordare solo lavori abbastanza recenti, ne citiamo due di BARBOUR, uno dei quali è stato eseguito in collaborazione con COPENHAVER : in essi viene studiata la azione della morfina (e della scopolamina) sull' utero intatto (*) dell' animale spinale, e sull' utero isolato. Tanto dall' uno che dall' altro lavoro resulta che la morfina o non ha azione

(*) Avremmo molti dubbî sulla proprietà di un tale aggettivo : l' A. si serve dei gatti, in cui eseguisce la decerebrazione od a traverso al foramen magnum, od a traverso alle orbite, istituisce la respirazione artificiale, incide la parete addominale con un taglio longitudinale di 4 cm. al di sopra del pube, solleva le anse intestinali, taglia il corno uterino in prossimità dell' ovaio, lo lega insieme con i vasi e lo isola dalla parete posteriore addominale per farlo passare in un cilindro di vetro sufficientemente ampio perchè l'organo non subisca attriti contro le pareti, riempie di olio la cavità addominale ed il cilindro, a traverso cui passa il filo che trasmette i movimenti dell' utero alla consueta leva. Dopo tutte queste operazioni un tale utero può proprio dirsi *intatto*?

alcuna, od eleva il tono dell' utero; solo nell' animale spinale si è ottenuto qualche volta rilasciamento, ma tal fenomeno era legato sempre ad abbassamento molto considerevole della pressione, di modo che è da ritenersi, che l'azione diretta consista in lieve aumento del tono per le dosi medie, mentre le forti conducono quasi al tetano determinando aumento nella frequenza delle contrazioni e diminuzione nella ampiezza; tali resultati concordi tanto nelle esperienze su utero isolato che su quelle su utero intatto sono in disaccordo con le constatazioni cliniche, in cui, certo, la morfina si usa a scopo sedativo anche in ostetricia: ne segue, secondo l'autore, che tali effetti sono unicamente dovuti alla azione cerebrale, che nell' animale integro domina l'azione locale. Per CHIDICHIMO la morfina in piccole o medie dosi, dopo un periodo di eccitazione, rende le contrazioni più lente ma più energiche, ed insieme con l'oppio vale a regolarizzare le contrazioni e a vincere lo spasmo del cercine di contrazione. Ecco i risultati delle esperienze:

Esp. 6. — Cavia di gr. 180 di p. c., utero vergine (Fig. 2).



Fig. 2.

Ringer puro = L'utero è in riposo; solo di rado ha lievi oscillazioni di tono.

Ergotina (sol. 5 %) gocce V = Avvertita immediatamente dà luogo ad una lenta contrazione, di ampiezza molto modesta. Ritornando l'organo in riposo si applicano:

Morfina (cloridrato) gocce V = Non avendo portato modificazioni di sorta si aggiunge:

Ergotina gocce V = Che provoca una contrazione analoga alla precedente, però a differenza di quella, fra il momento di applicazione e quello di azione intercorre un certo tempo. All' aggiunta di altra:

Ergotina gocce X = Si ripete tal fatto, iniziandosi una serie di contrazioni assai lente, ma di discreta ampiezza. Viene allora saggiata di nuovo la

Morfina gocce V ripetute tre volte = Che non inducono alcun rilasciamento, né impediscono tali contrazioni, anzi piuttosto in qualche momento si ha l'impressione che risvegli la contrazione. Il bagno contiene oltre gr. 0,01 di cloridrato di morfina per 100 cc. di soluzione di Ringer.

Esp. 7. — Cavia di gr. 200 di p. c., utero vergine (V. Fig. 5 dell'esp 32).

Ringer puro = Questo corno uterino è molto eccitabile; subito dopo la applicazione è entrato in tetano che si è protratto per lungo tempo: finalmente, rilasciatosi, non presenta contrazioni di sorta: basta però l'aggiunta di.

Ergotina gocce I = Per farlo rientrare in tetano. Allora si applicano.

Morfina gocce XLI in quattro volte = senza che si modifichi per nulla lo stato di contrazione: su tale organo viene poi provata la papaverina, ma di essa riferirò insieme con le altre esperienze di quel gruppo.

Esp 8. — Cavia di gr. 200 di p. c. utero vergine.

Ringer puro = Poco dopo la applicazione si contrae. e rimane con tono discretamente elevato, mentre traccia piccole ondulazioni.

Morfina gocce XX = Producono per breve intervallo un leggero abbassamento di tono, che torna poco dopo all' altezza ordinaria ; le contrazioni però sono diminuite di ampiezza : anche su questo tratto di utero si prova poi la papaverina.

Da queste e da altre esperienze consimili che risparmiamo di descrivere, ci sembra dunque poter dedurre che, nelle condizioni esposte, la morfina è incapace di provocare un vero e prop riorilasciamento : solo di rado se ne ha uno transitorio ; qualche volta, se l'utero è in periodo di azione, favorisce le contrazioni, ma il più delle volte si può dire che non modifica affatto il comportamento dell' organo. È perciò probabile che l'azione sedativa, che la clinica constata per la morfina nel campo ostetrico, sia da riferirsi alla sua azione generale soltanto, non ad azione locale sulla muscolatura o sulla innervazione intrinseca dell' organo.

Come appendice alle esperienze sulla morfina, ne ho istituite alcune poche con la associazione morfina-scopolamina, nella quale i due alcaloidi sogliono, almeno in altri campi, determinare azione sinergica : allo scopo mi sono servito del preparato commercialmente denominato *Paunevrol* (L. Molteni e C. Firenze) preparato dal Prof. G. CORONEDI, e che già ha dato ottimi resultati anche nellatera peutica ostetrico-ginecologica.

La semplice associazione morfina-scopolamina è stata del resto provato largamente da BARBOUR e COPENHAVER, che hanno dimostrato che tanto la morfina che la scopolamina, sia isolate che associate stimolano ed accrescono il tono dell' utero staccato dell' animale con forti dosi si può ottenere il tetano, a differenza di diò che avrebbero constatato KEHRER, CHIDICHIMO, ed altri per la morfina, secondo i quali le forti dosi avrebbero potere inibitorio. Gli AA. americani rilevano che la scopolamina è circa 10 volte più attiva della morfina, ma non mostra né azione sinergica né antagonista rispetto alla Morfina sull' utero. Nel paunevrol, oltre ai due alcaloidi (gr. 0.001 scopolamina e gr. 0,01 morfina) vi sono altre due sostanze di per sè inattive, ma che hanno nel complesso una loro speciale funzione attivatrice.

Esp. 9. — Cavia di gr. 270 di p. c., utero gravido all' inizio Si esperimenta su un corno dell' utero privo di embrioni.

Ringer puro = Il muscolo è fortemente contratto, è non tende a rilasciarsi.

Paunevrol gocce XX = Rilasciamento lento e continuo.

Ergotina gocce L = sono insufficienti a risvegliare le contrazioni.

Esp. 10. — Cavia di gr. 270, utero gravido : si esperimentà su un corno gravido in cui si notano, dall'esterno, tre embrioni di un diametro di circa 9 mm.

Ringer puro = Contrazioni piccole e scarse.

Ergotina gocce X = Lieve contrazione ma più pronunciata.

Paunevrol gocce XX = Si nota subito una contrazione che è seguita però immediatamente da rilasciamento completo.

Ergotina $cc^3 2$ = Non sono più avvertite contrazioni

Da ciò risulta che l'associazione non ha grande efficacia sulla muscolatura liscia, mentre invece essa si dimostra palese sul sistema nervoso.

* * *

Codeina. — Non ci è stato possibile trovare notizia alcuna né clinica, né tanto meno farmacologica al riguardo della azione del presente alcaloide sulla muscolatura liscia dell' utero: sembra che sulla innervazione intestinale abbia una leggera azione sedativa, mentre le forti dosi aumenterebbero la peristalsi fino alla diarrea.

Esp. 11. — Cavia di gr. 230 di p. c., utero vuoto.

Ringer puro = Subito dopo l'applicazione l'utero va rilasciandosi.

Codeina (sol. 2 %) gocce X = Il tono rimane stazionario, né compare alcun fatto degno di nota.

Ergotina gocce X = Si ha una buona contrazione, e quindi un periodo di stato di diversi secondi: durante l'inizio del rilasciamento si applicano:

Codeina gocce X = Il rilasciamento prosegue fino ad esser completo: dipoi l'utero resta in riposo assoluto per molti secondi. Presenta quindi una contrazione meno ampia della precedente, seguita da altre di media intensità: durante una di queste si applica di nuovo.

Codeina gocce X = Essa provoca un rilasciamento della durata di alcune diecine di secondi, ma poco dopo ricompare una nuova contrazione brusca ed assai ampia, dopo la quale il tono va continuamente crescendo. Allora la somministrazione di

Codeina gocce V = E' insufficente a produrre rilasciamento.

Esp. 12. — Cavia di gr. 230 di p. c., utero vuoto.

Ringer puro = Il tono è stazionario, non presenta contrazioni di sorta.

Ergotina gocce X = Lieve aumento di tono con qualche oscillazione, però non sa manifestano contrazioni.

Codeina gocce X = Anche le piccole oscillazioni sono scomparse: la penna segni un tracciato lineare senza nessuna particolarità.

Ergotina gocce X = Nuovo aumento di tono con piccole oscillazioni lente, che vanno degradando.

Codeina gocce XX = Non si apprezza che la cessazione assoluta di ogni oscillazione; il tono non si modifica.

Ergotina gocce X = Il tracciato riprende l'aspetto su riferito: solo è lievemente aumentato il tempo di latenza.

Esp. 13. — Cavia di gr. 200 di p. c., utero nelle prime settimane di gravidanza.

Ringer puro = Non si hanno contrazioni: il tono va gradatamente salendo.

Codeina gocce IV = Leggerissimo rilasciamento all' aggiunta della sostanza: subito dopo il tono prosegue nella sua ascesa.

Codeina gocce IV = Il fatto si ripete ancora. (Viene poi su questo preparato sperimentata l'eroina, e per questa parte V. Esp. 26).

Possiamo dunque dedurre dalle presenti esperienze che la codeina sospende le contrazioni per brevissimo tempo, permettendone poco dopo delle normali, sia per ampiezza che per durata. Quanto alla sua azione sul tono, essa si riduce a conservarlo al punto in cui lo ha trovato per poche diecine di secondi. Questo per quanto riguarda la azione diretta sull' utero, l'unica di cui ci occupiamo nel presente lavoro; che se poi si consideri, che anche l'azione sua cerebrale è assai più

scarsa di quella della morfina, è facile intendere come questo alcaloide non sia mai usao nella terapeutica ginecologica.

* * *

Dionina. — Quale sia l'azione di questo alcaloide sull' organo in parola è impossibile desumere dalla letteratura, la quale, per quanto ci è dato riscontrare è muta a tale riguardo. Tuttavia i resultati ottenuti dalle nostre prove, ci sembrano più interessanti di quelli ottenuti con la codeina.

Esp. 14. — Cavia di gr. 160 di p. c., utero vergine.

Ringer puro = Contrazioni lievi.

Dionina (sol. 2 %) gocce X = Leggero rilasciamento dopo del quale il tono riprende ancora: applicata di nuovo non si hanno apprezzabili modificazioni.

Ergotina gocce V = Somministrate durante il principio del rilasciamento non impediscono che esso si effettui.

Ergotina gocce V = A questa seconda applicazione segue una forte e prolungata contrazione, durante la quale si applicano.

Dionina gocce X = Che non portano ad alcuna modificazione, salvo un lieve rilasciamento.

Esp. 15. — Cavia di gr. 270 di p. c., utero vuoto.

Ringer puro = Lievi oscillazioni, l'utero è in periodo di calma.

Dionina gocce V e X successivamente = Non portano modificazioni apprezzabili.

Ergotina gocce II = Dànno una lievissima contrazione, dopo la quale si applicano quasi subito:

Dionina gocce X = Ma prima di terminare questa somministrazione si ha una contrazione tetanica (forse dovuta all' ergotina precedentemente somministrata?). Durante il tetano si somministrano.

Dionina gocce XX = Che li per li non modificano il tracciato: però dopo una diecina di secondi il tono ritorna ad altezza normale.

Dionina gocce V e XX successivamente = Non modificano lo stato di completo riposo dell' utero stesso, che però è subito sensibile ad

Ergotina gocce X = Cui risponde con ampia contrazione.

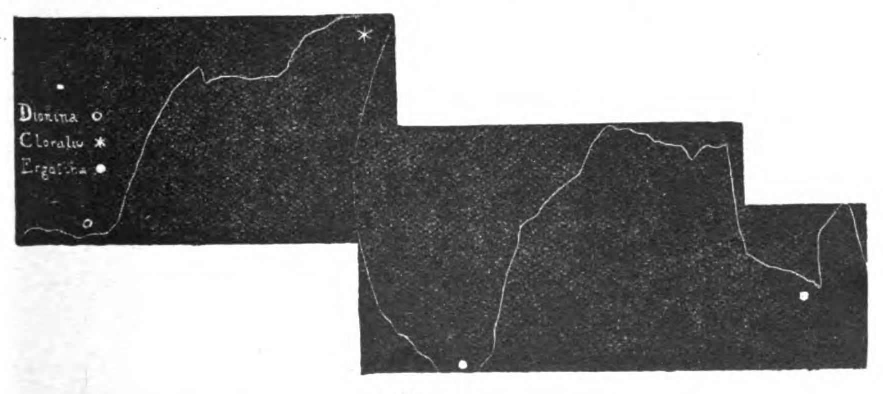


Fig. 3.

Esp. 16. — Cavia di gr. 320 di p. c. gravida di tre feti della approssimativa lunghezza di cm. 2: viene applicato il corno destro comprendente un feto (Fig. 3).

Ringer puro = Frequenti oscillazioni di tono che si mantengono entro limiti modesti: si può dire che l'utero sia in un periodo di calma.

Dionina gocce V = Energica contrazione, dopo la quale l'utero resta contratto per lungo tempo, ed il tono tende sempre ad aumentare.

Cloralio idrato (sol. 10 %) gocce V = Rilasciamento brusco e completo.

Ergotina gocce V = Immediata ripresa del tono, e valida contrazione che tuttavia non raggiunge l'altezza, cui era arrivata la grafica con la dionina.

Dionina gocce II e III successivamente = Sempre ampie contrazioni, ma meno alte: il tono va diminuendo.

Esp. 17. — Cavia della esp. precedente: si usa parte del corno sinistro evitando di comprendere i due feti.

Ringer puro = Lievi ondulazioni.

Dionina gocce V = Nessuna manifestazione.

Ergotina gocce X = Forte contrazione seguita da lungo tetano, durante il quale si aggiunge:

Dionina gocce V = senza alcun effetto. Viene poi sperimentata la peronina, per la quale rimando al suo gruppo (V. Esp. 19).

Risulta da queste ricerche che in molti casi, e cioè se l'utero è in riposo, ovvero durante una contrazione abituale di un utero vuoto e talora anche in utero gravido, può passare inavvertita, o dar luogo a lieve rilasciamento; invece in utero gravido, forse coincidendo la sua applicazione con un periodo di attività dell' organo, la dionina risulta capace di favorire, le contrazioni, di provocarle e per fino di dar luogo al tetano.

* * *

Peronina. — Anche la peronina è un alcaloide assai abbandonato, e quindi per essa pure è stato impossibile trovare notizie bibliografiche: ecco due esperienze abbastanza dimostrative.

Esp. 18. — Altro tratto del corno sinistro dell' utero della cavia precedente.

Ringer puro = L'utero è in assoluto riposo.

Ergotina gocce V = Pronta e rapida contrazione, dopo la quale il preparato rimane contratto per qualche tempo: si applicano allora.

Peronina (sol. sat. a freddo) gocce V e X successivamente = Questa ultima applicazione determina un brusco rilasciamento, durante il quale applicando.

Ergotina gocce X = Si risveglia una nuova contrazione, ma più stentata, più lenta e meno ampia della precedente. Ed anche dopo questa, con

Peronina gocce X = si ottiene un rilasciamento deciso.

Esp. 19. — Proseguimento della esp. 17

Mentre il segmento uterino trovasi ancora in tetano ergotinico, si applicano:

Peronina gocce V = Che apportano subito un lento rilasciamento; successivamente con l'aggiunta di altra

Peronina gocce X = Il rilasciamento si fa brusco e completo.

Riassumendo l'azione sedativa della peronina sopra alla attività uterina è manifesta, tanto che è capace di vincere anche il tetano

ergotinico : dopo che essa ha agito l'utero è ancora capace di rispondere all' ergotina, ma tale reazione si fa più stentata, ed è meno ampia del consueto.

* * *

Tebaina. — E' noto che fra gli alcaloidi dell' oppio questo è appunto quello che più si scosta dagli altri per quanto riguarda la azione sua generale, essendo piuttosto un eccitante che un deprimente. Non esistono a nostra cognizione studî relativi alla sua azione sull'utero.

Esp. 20. — Cavia di gr. 420, utero vergine.

Ringer puro = Appena immerso, l'organo si contrae fortemente, e tale rimane per oltre un quarto d'ora : viene allora somministrato del narcopon (gocce V) allo scopo di ottenere un certo rilasciamento : questo infatti avviene dopo poco, ma l'utero non presenta contrazioni spontanee.

Ergotina gocce V = Sono subito avvertite e la contrazione è ampia.

Tebaina (tartrato sol. 2 %) gocce X = Rilasciamento immediato, ma non completo, anzi il tono tende poco dopo a risollevarsi lentamente ; ripetesi la somministrazione :

Tebaina gocce X = Il rilasciamento riprende, ma più lento : durante questo una nuova applicazione di

Tebaina gocce X = Provoca subito una energica contrazione : mentre il tono è ancora alto, una ulteriore aggiunta di

Tebaina gocce X = Dà un rilasciamento assai duraturo, ma poi cominciano lente contrazioni spontanee.

Ergotina gocce II = Non danno fatti apprezzabili : il tono si mantiene nella elevazione iniziata, però le contrazioni si affievoliscono sempre più, e non sono sulla grafica che delle lievi ondulazioni. Quando il tono si rilascia, l'aggiunta di

Tebaina gocce XXX = Non produce che una lieve ripresa del tono, assai passeggera.

Esp. 21. — Cavia di gr. 350, utero vuoto.

Ringer puro = Ampie contrazioni assai rare.

Tebaina gocce X = Rilasciamento completo in cui persiste aggiungendo altra

Tebaina gocce X = Poco dopo si applica :

Ergotina gocce XX = E dopo poco l'utero si contrae al massimo, e tale rimane per lungo tempo.

Tebaina gocce X = Vi è solo un accenno al rilasciamento.

Esp. 22. — Cavia di gr. 280, utero vergine.

Il tratto di organo presenta modeste contrazioni, mentre il tono si solleva abbastanza rapido. Ad una prima applicazione di

Tebaina gocce V = Le piccole contrazioni diminuiscono, mentre il tono si eleva ancora ; e tale rimane per diversi minuti senza presentare più oscillazioni di sorta : di poi entra in fase di rilasciamento, che avviene quasi bruscamente fino a farsi completo.

Tebaina gocce X = Destano una ampia ed assai rapida contrazione seguita da altre consimili. Mentre l'organo trovasi in contrazione da qualche minuto, si aggiunge :

Tebaina gocce X = Che provocano rilasciamento completo.

Ergotina gocce V = Somministrate appena il rilasciamento è completo passano inavvertite, ma la nuova aggiunta di

Ergotina gocce X = Desta una contrazione ampia, energica, quasi immediata e duratura, durante la quale compaiono nuovamente piccole contrazioni. In questo stato di cose che dura assai viene provata ripetutamente

Tebaina gocce X per tre volte = Le contrazioni diminuiscono notevolmente subito dopo la prima applicazione, ma il tono non cede che qualche tempo dopo la terza : ogni tanto esso ha delle riprese, che sono continuamente descrescenti quanto alla ampiezza, e durante il loro acme rivediamo piccole contrazioni.

Esp. 23. — Cavia di gr. 230 di p. c., utero vergine.

Ringer puro = L'organo non presenta movimenti di sorta.

Ergotina gocce V = Contrazione energica immediata ; l'organo resta contratto.

Tebaina gocce X e L successivamente = Non riescono a toglierlo dallo stato di tatano.

Esp. 24. — Cavia di gr. 230, utero vergine.

Ringer puro = Scarse e piccole contrazioni.

Tebaina gocce V = Appena applicate il tono si eleva alquanto.

Tebaina gocce X = Il tono subisce una piccola caduta.

Tebaina gocce XX applicate in due tempi = Arrestano completamente le contrazioni, ma il tono non si modifica.

Ergotina gocce V, X, LX successivamente = Passano del tutto inavvertite.

Per quanto riguarda questo alcaloide non ci sembra punto facile tirare le somme. E' indiscutibile la azione sedativa sulle piccole contrazioni, ma, quanto al tono, sebbene prevalga il rilasciamento, questo può esser preceduto da una contrazione talora leggera, ma talora anche confrontabile con quelle che suole dare la ergotina, fino a provocare un vero e proprio tetano. Non ci è stato possibile determinare quale fosse il fattore predisponente all' uno, piuttosto che all' altro quadro : a coprire la nostra ignoranza possiamo certamente avanzare l'ipotesi della differenza individuale ; non ci sembra però a priori rifiutabile anche quest' altra, che cioè l'alcaloide in parola ecciti il sistema nervoso dell' organo, e ne deprima il sistema muscolare, per modo che nei preparati ove il tratto nervoso compreso è integro risalterebbe la eccitazione, mentre ove gli sopravvive in buone condizioni la fibra muscolare, ed esso è per qualsiasi ragione ineccitabile, emergerebbe l'azione antispasmodica.

* * *

Eroina. — Anche sulla azione di questo alcaloide sull' apparato genitale interno femminile poco o nulla sappiamo; tuttavia sperimentando non si può negare anche all' eroina una certa attività, che molto da vicino ricorda quella della dionina. Ecco qualche esperimento in proposito.

Esp. 25. — Cavia di gr. 550 di p. c., gravida alle prime settimane.

Ringer puro = Buone contrazioni spontanee : in un periodo in cui il tono va salendo, accompagnato da piccole ondulazioni, si applicano :

Eroina (cloridr. sol. 2 %) gocce X = L'effetto quasi immediato che esse producono è l'arresto di ogni ondulazione e contrazion, mentre il tono prosegue a crescere insensibilmente. Due applicazioni successive di

Ergotina gocce V e X = Non sono avvertite.

Eroina gocce XV = Dànno un leggero rilasciamento, cui segue subito la interrotta ascensione del tono, ma sopra a tutto sono scomparse le piccole contrazioni. Con la successiva applicazione di

Eroina gocce L per due volte = Si ha lieve abbassamento del tono, che subito riprende 'a sua ascesa.

Ergotina somministrata in diverse riprese = Non ha recato modificazioni apprezzabili; solo una volta le è seguito un marcato rilasciamento, però di breve durata, chiuso da un rialzarsi lento del tono, che poi si mantiene stazionario per lungo tempo,

Esp. 26. — Seguito dell' Esp. 13.

Dopo le applicazioni di codeina l'utero prosegue a contrarsi: allora è stato aggiunto nel bagno:

Eroina gocce XX = Il tono gradatamente si abbassa.

Ergotina gocce V = Leggerissima contrazione; poi il tono rimane stazionario.

Ergotina gocce XX = Elevamento di tono appena apprezzabile.

Eroina gocce XX = Fugace e scarso elevamento, cui segue un lento e continuo rilasciamento.

Esp. 27. — Cavia di gr. 580, gravida di un feto al corno sinistro della lunghezza di 5 cm. circa: viene usato il corno destro che è vuoto.

Ringer puro = Contrazioni spontanee discrete: durante il rilasciamento di una piccola contrazione si applica:

Eroina gocce X = Le quali provocano una contrazione amplissima che oltrepassa i limiti concessi alla penna scrivente: nonostante che si allenti il sistema, tale contrattura permane, anzi ogni volta che abbassando il sistema si permette all' utero di contrarsi di più, esso riporta la penna al suo massimo di escursione. Persiste questo stato di cose per più di dieci minuti primi: allora il tono comincia ad abbassare compiendo discrete oscillazioni, durante le quali in tre volte si applicano:

Eroina gocce LX = Dopo l'ultima applicazione si ha caduta del tono, e l'utero cade in risoluzione completa. Sembra che dopo un tetano così prolungato l'organo si sia esaurito, perché anche la applicazione di

Ergotina gocce V = Non apporta effetto alcuno, e la penna segna una linea quasi orizzontale.

Riassumendo si può dunque dire che l'eroina di rado riesce a far diminuire di poco il tono quando questo è alto: in utero gravido, ed in fase di ampie contrazioni, può esser causa di un tetano violentissimo e molto prolungato, quale suole darlo talora l'ergotina medesima.

* * *

Papaverina. — E' questo il primo, fra gli alcaloidi presi in considerazione in questa nota, il quale faccia parte del gruppo di quelli che presentano un nucleo isochinolinico. Dato il suo valore clinicamente constatato come antispasmodico per eccellenza, era naturale che lo si sperimentasse largamente sulla muscolatura liscia sia dei vasi che dell' intestino, sia anche sull' utero. Si può dire che tutti gli

autori sono concordi nell' attribuire a questo alcaloide proprietà antispasmodiche: così mediante la vasodilatazione, non del resto eccessiva, si può ottenere l'abbassamento di pressione negli ipertesi, senza i molti pericoli che presentano i derivati dell' acido nitroso, così fin dal 1892 LEUBUSCHER la raccomandava molto nelle diarree infantili, e fra gli altri la sua utilità in questo campo era confermata da POPPER, che riferisce che l'intestino sopravvivente di cane avverte già la azione sedativa, quando l'alcaloide trovasi nel bagno alla concentrazione di 1 a 1.600.000. Qualche volta tuttavia somministrando all' animale delle dosi tossiche, ed osservando l'intestino, sono stati constatati energici movimenti: BABEL in un lavoro comparativo fra l'azione della papaverina e della laudanosina, ha potuto dimostrare, che tali movimenti sono l'effetto della carbossiemia per l'alterazione delle funzioni respiratorie: tale esagerata peristalsi non si riscontra infatti, se si osservano le anse intestinali tenendole, insieme con tutto il corpo dell' animale in un bagno di Ringer ossigenato e tiepido. Così infine si è riscontrata azione sedativa anche per la vescica e per l'utero, sia in istato di gravidanza o meno; e ciò si verifica anche dopo la somministrazione di eccitanti, come la pituitrina od altri preparati. Oggi, sebbene la papaverina sia ancora, e forse a torto, poco usata dai medici pratici, essa trova posto, ed ha forse la parte principale, nell'azione di alcuni rimedî specializzati, come la *Spasmalgina* «*Roche*», in cui il nostro alcaloide è associato ad altre due preparazioni della casa, il *Pantopon* (alcaloidi totali dell'oppio) e l'*Atrinal* (acido atropin-solforico). Infine in questo anno si è usata anche come sedativo degli spasmi della muscolatura striata, ove pure ha dato dei successi. Noi abbiamo eseguite numerose esperienze con la papaverina, e qualcuna anche con la spasmalgina gentilmente favoritaci dalla Ditta produttrice; nel nostro campo sperimentale la conferma delle notizie bibliografiche sopra riassunte è chiara e manifesta.

Esp. 28. — Topo di gr. 230 di p. c., utero vuoto.

Ringer puro = Il preparato presenta contrazioni normali.

Papaverina (tartrato sol. 2 %) gocce IV = L'utero rimane inerte per qualche secondo; ha poi una fugace contrazione, il cui rilasciamento è più rapido che di consueto.

Papaverina gocce IV = La contrazione che segue è ridotta ai minimi termini. Applicata ancora

Papaverina gocce IV = L'utero rimane completamente paralizzato. Infatti anche

Ergotina gocce XL = Non dànno effetto alcuno.

Esp. 29. — Topo di gr. 250 di p. c., gravidanza iniziale (Fig. 4).

Ringer puro = Valide contrazioni.

Ergotina gocce V = Le contrazioni continuano quasi immodificate. All' acme di una di queste si somministra,

Papaverina gocce VIII = Essa provoca rapido ed immediato rilasciamento, con arresto completo delle contrazioni.

Ergotina gocce XL = E' incapace di risvegliarle.



Fig. 4.

Esp. 30. — Topo che ha servito per la prec. esp.

Ringer puro = Contrazioni valide.

Ergotina gocce X = Provocano una contrazione più ampia che di norma.

Papaverina gocce III = Applicate all' acme della contrazione provocano immediato e brusco rilasciamento completo, dopo il quale

Ergotina gocce XL = Sono insufficienti a produrre il benchè minimo effetto.

Esp. 31. — Topo di gr. 180, utero vuoto.

L'esperienza è condotta identicamente alla precedente ed offre identici resultati.

Esp. 32. — Seguito della Esp. 7 (Fig. 5).

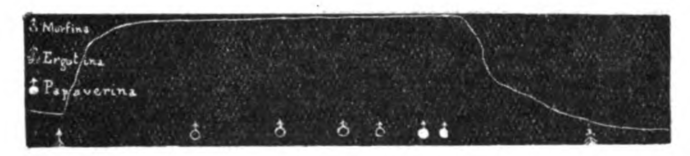


Fig. 5.

Constatato che il tetano in cui si trovava l'organo non era stato dominato da XL gocce di morfina, vi si aggiunge :

Papaverina gocce V ripetute due volte = Poco dopo si è iniziato il rilasciamento, che in breve si è fatto completo, e dal quale non è stato risvegliato neppure da L gocce della medesima soluzione di ergotina, che aveva provocato il tetano in questo stesso preparato.

Esp. 33. — Seguito della esp. 8.

Anche in questa esperienza dopochè il preparato ha subito l'azione della morfina con scarso effetto, si aggiungono :

Papaverina gocce II = In seguito alle quali si ha solo un notevole abbassamento delle piccole contrazioni. Però all' aggiunta di altra

Papaverina gocce VIII = Si ha il solito rilasciamento completo.

Ergotina gocce C = Sono insufficenti a destrare qualsiasi contrazione.

Esp. 34. — Topo di gr. 290 di p. c. gravido di 11 feti della approssimativa lunghezza di cm. 2. Il tratto di utero in esperimento comprende tre feti. (N. B. Nella presente esperienza si usa la soluzione di papaverina in concentrazione 1.375, anzichè al 2 % come sempre, per rendere possibile un confronto con la narceina che prenderemo in considerazione fra poco, la cui soluzione satura a freddo corrisponde appunto ad 1 : 375).

Ringer puro = Buone contrazioni.

Papaverina (sol. 1.375) gocce V = Durante la sua applicazione si constata una ripresa della contrazione, che stava rilasciandosi, ripresa che è meno ampia e più rapida del consueto : una contrazione successiva è ancora più bassa.

Papaverina gocce XL = Cessa ogni contrazione.

Ergotina gocce XL = Non dà nessuna risposta : solo dopo oltre un minuto primo si ha una parvenza di contrazione, poi più nulla.

Esp. 35. — Cavia di gr. 440 di p. c., inizio di gravidanza.

Ringer puro = Contrazioni rare.

Ergotina gocce IV = Nessun effetto veramente manifesto. Si cambia il liquido, ed appena l'organo trovasi nuovamente in

Ringer puro = Si ha una ampia contrazione, e l'organo rimane contratturato per alcuni secondi : dipoi si rilascia. Applicato di nuovo

Ergotina gocce V = Non si ha che una lieve risposta; e niente di più si ottiene per la aggiunta di altra

Ergotina gocce V = Però datane una forte dose, cioè :

Ergotina gocce L = Si ha una contrazione amplissima : al suo acme si somministra :

Spasmalgina « Roche » gocce X = Da cui si ha un immediato e rapido rilasciamento : però poco dopo seguono altre due ampie contrazioni. Ripetuta allora la somministrazione di

Spasmalgina gocce X = Si constata la completa abolizione delle contrazioni, che nonostante l'aggiunta di

Ergotina gocce L = Non si risvegliano.

Possiamo dunque concludere al riguardo della papaverina, che essa provoca paralisi completa immediata : forti dosi di ergotina sono poi incapaci di risvegliare contrazioni, quando la papaverina è stata somministrata in quantità di circa X gocce della soluzione al 2 % : se invece si usa il medesimo numero di gocce della soluzione 1:375 (confrontabile con la soluzione satura di narceina), l'ergotina raramente ed incompletamente, pure riesce a destare piccolissime contrazioni. Infine la papaverina è capace di vincere anche gli spasmi più energici, contro i quali la morfina aveva fallito.

* * *

Narcotina. — Non si sono potute riscontrare notizie bibliografiche riguardanti questo alcaloide — del resto poco usato — che interessassero per questo lavoro. Ecco alcune ricerche.

Esp. 36. — Cavia di gr. 470 di p. c. gravidanza iniziale

Ringer puro = Utero assai inerte.

Ergotina gocce II = Discreta contrazione.

Narcotina (sol. sat. a freddo) gocce V, V, XX successivamente = Ogni somministrazione provoca modica contrazione, che però non avviene tutta di continuo, ma a scatti, come intercisa, seguita da un lieve rilasciamento di simile aspetto. Dopo l'ultima dose si ha una contrazione più prolungata, seguita da un rilasciamento più marcato durante il quale

Ergotina gocce V = Passano inavvertite. Ripetuta la dose di

Ergotina gocce V = Si verifica solo una piccola contrazione : lo stesso con

Ergotina gocce XX = Poco dopo si raddoppia ancora la dose e si constata che dando

Ergotina gocce XL = Si ha un rilasciamento marcato, durante il quale la somministrazione di

Narcotina gocce XX = Provoca una contrazione che nell' attuale stato del preparato è tuttavia più ampia di quelle provocate dalla ergotina precedentemente somministrata. Applicando poi:

Narcotina gocce XX = La risposta è molto minore; ma anche con

Ergotina gocce XX = E' appena avvertita.

Esp. 37. — Cavia di gr. 300 di p. c. utero vuoto.

Ringer puro = L'utero presenta piccole contrazioni e considerevoli modificazioni di tono: durante una fase di lento rilasciamento si applicano:

Narcotina gocce V = Che dànno una lieve contrazione, seguita da rilasciamento lento e prolungato: poi il tono aumenta, ma l'applicazione di

Ergotina gocce IV e X successivamente = Non dà nessuna contrazione.

Esp. 38. — Cavia di gr. 550 di p. c., gravida all' inizio.

Ringer puro = L'utero è completamente rilasciato.

Ergotina gocce V = Risveglia contrazioni discretamente ampie; durante una di queste si applicano.

Nacotina gocce X = La contrazione si arresta temporaneamente; poi riprende più ampia. Dopo un discreto rilasciamento si aggiunge:

Narcotina gocce XX = Che produce una forte eccitazione, tanto che la grafica sorpassa il cilindro e la stessa disponibilità della penna. L'organo rimane in tetano per oltre un quarto d'ora, durante il quale tanto ergotina che narcotina non dànno che lievi oscillazioni di tono. Quando poi inizia la lenta caduta del tono si constata che i singoli rilasciamenti delle contrazioni sono assai bruschi, di modo che la grafica presenta un aspetto quasi scalariforme. In questo periodo

Narcotina gocce X = Passano quasi inavvertite. Nonostante i tentativi di rilasciamento il tratto di organo si può dire che rimanga fortemente contratturato per quasi un ora, dopo la quale messo in

Ringer puro = Si rilascia quasi completamente.

Riassumendo, sulla azione della narcotina possiamo dire che essa, almeno in un primo tempo, eccita l'utero, e questo risponde con una piccola contrazione se è vuoto e in istato normale, con una contrazione forte o fortissima se si tratta di un utero gravido o dopo eccitamento ergotinico. Solo assai tardi si può avere rilasciamento, ma non mai completo, e non gli segue poi un periodo di calma assoluta. I piccoli rilasciamenti abituali sono più bruschi: di qui l'aspetto angoloso che prende la grafica. Sembra infine che la narcotina inibisca assai nell' organo in questione la consueta sensibilità alla ergotina.

* * *

Narceina. — E' questo uno dei più usati alcaloidi dell' oppio dopo la morfina e la codeina, e sopra a tutto usato a scopo sedativo narcotico sul sistema nervoso; ma per quanto riguarda la sua azione diretta sulla muscolatura liscia non ci è stato possibile di riscontrare alcun lavoro degno di nota. Non sebrandoci che la narceina di cui disponevamo fosse sufficentemente pura è stata ricristallizzata,

e quindi sciolta in soluzione 1 : 375 (satura a freddo) favorendo anche la completa solubilità con due gocce di soluzione di acido tartarico assai concentrata per ogni dieci cc. di soluzione alcaloidica e riscaldando lievemente. Ecco alcune prove.

Esp. 39. — Cavia di gr. 350 di p. c., utero vuoto.
Ringer puro = Contrazioni spontanee lentissime e scarse.
Ergotina gocce V = Piccola contrazione.
Ergotina gocce X = Contrazione assai energica.
Narceina (sol. sat. a freddo 1.375) gocce X = Lieve e lenta contrazione.
Ergotina gocce X = Risposta pronta ed energica.
Narceina gocce XXV = Leggerissima elevazione passeggera.
Ergotina gocce V = Sono immediatamente avvertite, ciò che non era nel caso delle esperienze con narcotina.
Narceina gocce X = Si ripete il piccolo accenno di contrazione.

Esp. 40. — Cavia di gr. 360 di p. c. utero vuoto.
Ringer puro = Lente contrazioni spontanee.
Narceina gocce XX = Contrazione mediocre, cui segue un notevole rilasciamento interrotto da alcune contrazioni spontanee.
Ergotina gocce V = Contrazione amplissima, e rapida tanto nella ascesa quanto nella discesa.
Narceina gocce X = Ridestano un' altra contrazione.
Ergotina gocce XII = Energica e rapida contrazione.
Narceina gocce L = Piccola contrazione all' atto dell' aggiunta, seguita da discreto rilasciamento, in cui di tanto in tanto appaiono contrazioni spontanee valide.

Esp. 41. — Cavia di gr. 200 di p. c., utero vuoto.
Ringer puro = Contrazioni molto piccole : il tono abbassa.
Ergotina gocce V = Appena eseguita l'applicazione si ha una contrazione energica. All' aggiunta di
Narceina gocce X = Il rilasciamento si fa completo e l'utero rimane immobile. Dopo poco più di un minuto presenta però una ampia contrazione spontanea, come se avesse ricevuto una nuova dose di ergotina ; anzi il periodo di contrazione è stato più lungo ; poi si è avuto un nuovo rilasciamento.
Ergotina gocce V = Contrazione ampia consueta.
Narceina gocce XL = L'utero rimane immobile per almeno tre minuti primi, ma è prontamente sensibile all' ergotina.

Da quanto è stato asposto deduciamo che la narceina non ha grande azione sul muscolo uterino ; al più è capace di prolungare le fasi di riposo spontanee, ma non impedisce ampie contrazioni, siano esse spontanee che provocate ; anzi essa stessa suole causare piccole contrazioni.

* * *

Tentiamo ora di ragionare sulla base dei reperti sperimentali farmacologici ottenuti con i varî alcaloidi dell' oppio, presi in esame, per mettere in evidenza se esistano, ed in caso positivo, quali siano i rapporti che intercorrono fra la costituzione loro, e la loro azione

biologica. Tentiamo perciò di raggrupparli secondo i caratteri salienti di azione fisiologica, avvertendo che qui usiamo una forma schematica, allo scopo di semplificare i ragionamenti successivi, forma che porta seco i difetti comuni a tutti gli schemi :

Basi dell' Oppio considerate nel presente lavoro, raggruppate secondo il tipo della loro azione saliente in rapporto al muscolo uterino

	Paralisi completa duratura	Paralisi transitoria	Paresi o leggera inibizione senza fase di eccitazione	Inibizione transitoria preceduta da fugace eccitazione	Stimolazione evidente che si constata in uteri ipereccitabili
1	—	—	Morfina	—	—
2	—	—	Codeina	—	—
3	—	—	Dionina	—	Dionina
4	—	Peronina	—	—	—
5	—	Tebaina	—	—	Tebaina (*)
6	—	—	—	Eroina	Eroina
7	Papaverina	—	—	—	—
8	—	—	—	Narcotina	Narcotina
9	—	—	—	Narceina	—

In primo luogo perché varî termini siano confrontabili è necessario che oltre alla simiglianza nella azione, ci sia anche una più o meno prossima simiglianza nella costituzione : così ci sembra senz' altro fuor di luogo confrontare elementi del gruppo isochinolinico con quelli del gruppo fenantrenico, anche se eventualmente avessero presentato comportamento simile, perché fra i due gruppi mal si potrebbero istituire dei raffronti chimici.

Se osserviamo il quadro precedente per ciò che riguarda i primi sei alcaloidi a nucleo fenantrenico concludiamo che la azione sedativa cresce in questo senso :

$$\text{Eroina} < \left\{ \begin{array}{l} \text{Morfina} \\ \text{Codeina} \\ \text{Dionina} \end{array} \right\} < \text{Peronina}$$

(*) Vedere le riserve enunziate a proposito di tale azione per questo alcaloide.

Non figura la tebaina perché se essa ha dato prova di energica azione antispasmodica, ha mostrato in molti altri casi, ed anche sullo stesso organo in successive applicazioni, evidente azione eccitante energica, senza che si sia potuta trovare con sicurezza la ragione del fatto in una manifesta ipereccitabilità dell' organo, od in altre contingenze estranee alla azione dell' alcaloide in utero normale. Quindi per certi riguardi si dovrebbe far precedere alla eroina, per altri farla seguire alla peronina : ma dato che qui si vuol essere schematici, preferiamo in questo punto tralasciarne la considerazione. Chimicamente dunque si ha :

$$C_{17}H_{17}NO\begin{cases}OH\\OH\end{cases}$$

Morfina

$$C_{17}H_{17}NO\begin{cases}O.COCH_3\\O.COCH_3\end{cases}$$

Diacetil—M.

$$C_{17}H_{17}NO\begin{cases}O.CH_3\\OH\end{cases}$$

Metil—M.

$$C_{17}H_{17}NO\begin{cases}O.CH_2.C_6H_5\\OH\end{cases}$$

Fenil—metil—M.

$$C_{17}H_{17}NO\begin{cases}O.C_2H_5\\OH\end{cases}$$

Etil—M.

Osservando quindi i presenti dati dobbiamo dunque dedurre che :

1° Se nel gruppo fenantrenico modificato come occorre per avere la formola di costituzione della morfina sostituiamo ambedue i gruppi idrossilici, l'azione sedativa è sostituita del tutto da una azione eccitante, o se anche l'azione sedativa sussiste, non è mai energica. Ne deduciamo che il complesso molecolare morfinico, per conservare la proprietà sedativa non può fare a meno di un ossidrile non sostituito.

2° A parità di condizioni (con un ossidrile libero) non si notano differenze spiccate, sia che l'altro ossidrile rimanga libero, sia che se ne sostituisca il suo con un metile ovvero con un etile.

3° La massima azione sedativa la abbiamo constatata quando, pur rimanendo libero l'ossidrile di cui sopra, essendo l'idrogeno dell'altro sostituito con un metile, viene a sua volta in questo gruppo sostituito un H con un gruppo fenilico.

4° A parità di condizioni (con ambedue gli ossidrili sostituiti) — prendendo ora in considerazione anche la Tebaina o Dimetilmorfina : $C_{17}H_{17}NO\langle{OCH_3 \atop OCH_3}$ — il gruppo metilico $—CH_3$ dimostra una energia molto superiore a quella che svolge il gruppo acetilico $—COCH_3$, e ciò tanto quando eccita che quando deprime.

Per i tre alcaloidi del gruppo isochinolinico ci sembra impossibile trarre deduzioni : constatiamo solo che l'azione sedativa cresce in questo senso : $\left\{ {\text{Narcotina} \atop \text{Narceina}} \right\} <$ Papaverina. Essendovi troppe differenze nella costituzione di questi tre alcaloidi, è quasi impossibile, finché non si possano sperimentare aggruppamenti molecolari più similari, attribuire all'uno od all'altro gruppo atomico l'energica proprietà antispasmodica. Fra le tante che possono venire alla mente, una delle ipotesi meno improbabili potrebbe essere, che la Papaverina debba la sua azione al fatto che essa contiene quattro metossili, mentre gli altri due composti non ne contengono che tre; ed è noto che tale gruppo non è privo di una certa azione in quel senso, come dimostra anche la costituzione della chinina messa a confronto con quella tanto affine della cinconina : questa, che corrisponde a $C_{19}H_{21}.OH.N_2$ ha una azione convulsivante ; quella, che non ne differisce che per la presenza di un metossile al posto di un idrogeno, avendo per formola : $C_{19}H_{20}(OCH_3).OH.N_2$ possiede, fra le altre, proprietà analgesiche. Nel campo nostro però, dato il grande numero di possibilità, non siamo autorizzati a formulare una ipotesi più sostenibile, sopra tutto perché, come si è detto, mancano analoghi complessi molecolari, sui quali poter seguire le modificazioni fisiologiche che si accompagnano a modificazioni simili alle su esposte per le tre basi del gruppo isochinolinico prese in considerazione.

* * *

Esaurite così le ricerche sopra ai derivati dell'oppio, si è voluto saggiare, giacché se ne aveva la possibilità, alcuni ipnotici dei più in uso, sebbene, essi non siano stati impiegati in ginecologia od ostetricia altro che molto di rado, ad eccezione forse del validolo.

Cloralio idrato. — Ecco qualche esperienza a questo riguardo.

Esp. 42. — Cavia (seguito della esp. 3).

Dopo avere subito applicazioni di ergotina e di narcopon per le quali rimando al relativo gruppo, viene cambiato il liquido del bagno, ed in queste tempo avviene una contrazione dovuta ai fatti fisici più volte ricordati: dopo che l'organo ha presentato una contrazione naturale spontanea si aggiungono al Ringer.

Cloralio idrato (sol. 1 %) gocce XX = Segue una contrazione normale, ma più breve: durante l'ascesa si somministrano ancora.

Cloralio idrato gocce XX = Senza che si manifesti nulla di nuovo: avvenuto il rilasciamento completo si ripete

Cloralio idrato gocce LX = Allora non si hanno più contrazioni per circa 10 minuti primi; però basta una piccola dose di

Ergotina gocce V = Per destare una valida contrazione, che presenta qualche differenza dalle altre precedentemente constatate per avere un periodo di tetano più lungo, ed un rilasciamento più rapido ma meno completo.

Esp. 43. — Cavia, tratto di utero con due feti. (Fig. 6).

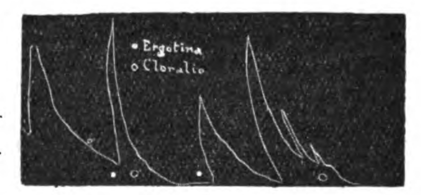


Fig. 6.

Ringer puro = Tale tratto uterino presenta ampie ed irregori contrazioni ed è sensibilissimo alla

Ergotina gocce V = Cui risponde con una brusca e rapida contrazione.

Cloralio idrato gocce XX = Si ha un rilasciamento assai completo che sembra duraturo.

Ergotina gocce XV = Risveglia subito una contrazione assai meno ampia però della precedente, e con fase di più lento rilasciamento. Una seconda dose di

Ergotina gocce XV = Dà una contrazione quasi normale: durante il rilasciamento ha qualche ripresa di contrazione assai lieve. Applicato ancora

Cloralio gocce XX = Si ha rilasciamento completo e le contrazioni non si risvegliano più.

Ci sembra da queste e da altre esperienze che non stiamo a riportare che il cloralio non abbia sull' utero né una azione prolungata, né completa, nel senso di determinare il riposo dell' organo, per quanto in alcuni casi la si sia anche potuta ottenere, sebbene molto di rado.

* * *

Paraldeide.

Esp. 44. — Cavia di gr. 360 di p. c., utero vuoto. (Fig. 7).

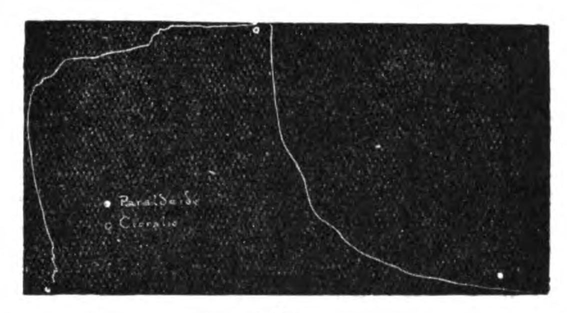


Fig. 7.

Ringer puro = Movimenti mediocri piuttosto rari.
Paraldeide (sol. 2 %) gocce X = Energica ed ampia contrazione, assai duratura, tanto che l'organo entra in tetano: esso si rilascia per l'aggiunta di
Cloralio idrato (sol. 2 %) gocce XV = Dopo di esso
Paraldeide gocce XX = Passano inavvertite.

Esp. 45. — Cavia di gr. 290 di p. c., utero vuoto.
Ringer puro = Lievi contrazioni regolari.
Paraldeide gocce V = Energica contrazione, dopo la quale rimane in contrattura continuata. L'aggiunta di
Paraldeide gocce X = Non dà che un lieve aumento di tono.
Ergotina gocce V = Come era prevedibile passano inavvertite.

Questo ipnotico dunque sulla muscolatura uterina si comporta precisamente all' opposto che non sui centri nervosi, in quanto che si è dimonstrato un eccitante energico, quale si può considerare in linea generale l'ergotina: questa osservazione ci sembra che consigli almeno una grande prudenza nel suo uso durante la gestazione.

Esso si presta anche ad un'altra considerazione: se si osservano le formole del cloralio e della paraldeide

$$\begin{array}{ccc} & CCl_3 & \\ & | & \\ & CH & \\ / & & \backslash \\ HO & & OH \end{array} \qquad \begin{array}{ccccc} & & CH_3 & & \\ & & | & & \\ & & CH & & \\ & / & & \backslash & \\ & O & & O & \\ & | & & | & \\ & CH & & CH & \\ / & & \backslash \; / & & \backslash \\ CH_3 & & O & & CH_3 \end{array}$$

esse hanno una costituzione molto simile, quando si consideri la paraldeide come il prodotto di condensazione di tre molecole, ed allora

la differenza maggiore sta nei due gruppi CCl_3 nel cloralio e CH_3 nella paraldeide, a cui è da attribuirsi principalmente la differenza d'azione .

* * *

Bromuro di sodio.

Esp. 46. — Cavia di gr. 350 di p. c., utero vuoto.

Ringer puro = Scarse contrazioni.

Ergotina gocce V = Il tono si eleva.

Bromuro di sodio (sol. 2 %) gocce X = Non dà effetti molto spiccati.

Ergotina gocce V = Nuova e brusca elevazione assai duratura.

Bromuro di sodio gocce X = Rilasciamento completo.

Ergotina gocce V = Buona contrazione.

Bromuro di sodio gocce V = Rilasciamento.

Ergotina gocce II = Contrazione discreta : si direbbe che il successivo alternarsi dei due farmaci abbia sensibilizzato l'organo, di modo che quando dovrebbe essere più stanco invece risponde meglio all' uno ed all' altro preparato.

Deduciamo che questo sale ha una leggera azione sedativa, ma non pronta, e basta la minima eccitazione perché si sospenda.

* * *

Validolo (etere valerianico del mentolo).

Esp. 47. — Cavia di gr. 450 di p. c. in gravidanza iniziale con sei feti. (Fig. 8).

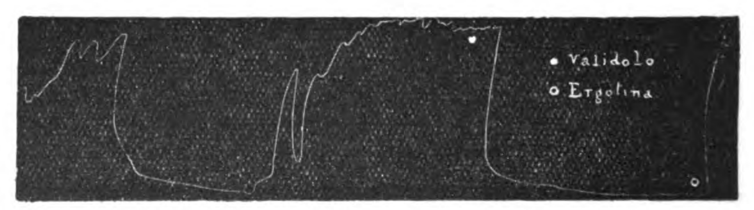


Fig. 8.

Ringer puro = Il tracciato dimostra benissimo il succedersi delle fasi normali di attività con quelle di riposo.

Validolo (Zimmer) gocce X = Dato in periodo di contrazioni porta ad immediato e duraturo rilasciamento : però :

Ergotina gocce X = Dànno immediata ed ampia ripresa delle contrazioni. Ripetuta la applicazione di

Ergotina gocce V per due volte consecutive = La risposta è stata minore.

Tale reperto è stato confermato in altre esperienze, per cui ci sentiamo autorizzati a concludere, che questo derivato valerianico mostra una attività molto spiccata nel senso del rilasciamento, tuttavia sono sempre possibili contrazioni, sia spontanee, che provocate.

PARTE SPERIMENTALE CLINICA-TERAPEUTICA.

Ai risultati dell' esperimento farmacologico, che fino a questo punto abbiamo riportati, sono state aggiunte le prove cliniche eseguite in quei casi in cui lo stato di contrazione uterina poteva meglio risentire l'azione degli antispasmodici sperimentati.

A questo scopo ci parve che la condizione più adatta o il momento migliore di sperimentare fosse il periodo della contrazione uterina durante un travaglio abortivo o durante quelle contrazioni spasmodiche comunemente denominate « morsi ».

Le prove eseguite nei casi sopraddetti ammontano a 105 : di queste, (ad eccezione di 9 casi nei quali venne usata la peronina) soltanto 5 hanno dato risultato completamente negativo.

E' opportuno accennare come tutte le prove cliniche, ben s'intende entro i limiti della nostra possibilità, siano state eseguite su quelle gravide e su quelle puerpere in cui non esisteva il minimo fattore fisiologico o patologico capace di turbare l'andamento dell'osservazione.

Della statistica nostra riportiamo qui soltanto alcuni tra i casi più tipici e più dimostrativi.

L'associazione di papaverina e di morfina (se si eccettui qualche prova sulla spasmalgina (ROCHE) non è stata saggiata sperimentalmente per la scarsità di animali adatti al fine : solo si è usata nelle prove cliniche per osservare se fosse eventualmente constatatabile una esaltazione del potere antispasmodico della papaverina stessa la quale, come risulta invece dalle esperienze sull' utero isolato di animali, ha prodotto quasi costantemente la paralisi completa e duratura del muscolo. Con le medesime intenzioni si è sperimentata nel campo clinico la « spasmalgina Roche ».

Gli effetti positivi ottenuti non fanno che confermare quanto abbiamo constatato per la associazione della « *Spasmalgina* » (HOFFMANN-LA ROCHE e C°.) secondo la formula: papaverina, gr. 0,02 pantopon, gr. 0,01, atrinal, gr. 0,001. La peronina invece, che nelle prove sperimentali si è mostrata la base più attiva dopo la papaverina rispetto all'azione antispasmodica, nelle osservazioni cliniche ha dato risultato completamente negativo.

Le dosi dei singoli prodotti farmaceutici, somministrati per via ipodermica nel campo clinico sono le seguenti.

Papaverina.

Ogni fiala di 1 cc^3 conteneva quantità variabili da gr. 0,01, a 0,02, 0,025, 0,03, 0,035, 0,04 ci cloridrato di papaverina.

Papaverina e Morfina.

Per ogni fiala di cmc. 1.
Papaverina Cloridr. gr. 0,01 e gr. 0,02 pro dosi.
Morfina Cloridr. gr. 0,005 e gr. 0,0005 pro dosi.

Spasmalgina.

(HOFFMANN-LA ROCHE e C°. Basilea).

Ogni fiala: Atrina gr. 0,001
Pantopon gr. 0,01
Papaverina gr. 0,02.

Paunevrol.

(L. MOLTENI E C. Firenze.)

Per ogni fiala da 1 cmc. contiene
Morfina cloridr. gr. 0,005
Scopolamina cloridr. gr. 0,0005

appositamente associate in combinazioni sinergica con altri componenti farmacologicamente indifferenti.

Abbiamo sottoposto ad esperienze anche il *Validolo*, somministrandolo a goccie per via orale.

Peronina.

Ogni fiala gr. 0,02 di peronina.

Premettiamo che in tutti i casi in cui dette sostanze furono somministrate, non avemmo mai a constatare alcun disturbo attribuibile ad esse, e ciò nemmeno in quei casi in cui le iniezioni furono ripetute a breve distanza.

* * *

Iniezioni di Papaverina.

Cartella 1187 — *M. V. anni* 39-4 *gennaio* 1922.
Travaglio abortivo al 2° mese di gravidanza.
Una prima iniezione di papaverina riesce con effetto quasi negativo perciò che riguarda le contrazioni uterine e i dolori. Una seconda iniezione praticata due ore e mezzo dopo fa cessare completamente le contrazioni.

Cartella N° 1178 — *O. F. C. anni* 23-20 *genuaio* 1922.
Travaglio abortivo al 3° mese di gravidanza. Anche in questo caso la prima iniezione di papaverina non fa notare alcuna modificazione. Una seconda iniezione praticata dopo 3 ore fa cessare ogni dolore e ogni contrazione dopo circa 20 minuti.

Cartella 1179. *M. A. S. anni* 25-20 *genuaio* 1922.
Primipara: iniezione di papaverina per forti contrazioni spasmodiche dell' utero

(morsi uterini) 24 ore dopo un parto spontaneo a termine e secondamento normale. Le contrazioni dolorose cessano un' ora dopo l' iniezione.

Cartella 19. *A. V. anni* 25-15 *gennaio* 1922.
Primipara, parto spontaneo a termine secondamento normale. Iniezione di papaverina in corrispondenza di morsi uterini comparsi 26 ore dopo il parto. Una prima iniezione riesce quasi negativa. Una seconda praticata alla distanza di due ore dalla prima, fa scomparire ogni dolore dopo un' ora e venti minuti.

Cartella 14. *E. T. anni* 36-20 *gennaio* 1922.
Secondipara, parto a temine spontaneo secondamento normale. Contrazioni spasmodiche dell' utero comparse 20 ore dopo il parto. Un' iniezione di papaverina fa scomparire dopo mezz'ora ogni contrazione dolorosa.

Cartella 55. *G. D. S. anni* 28-2 *febbraio* 1922.
Secondipara, parto spontaneo a termine, secondamento normale. Violenti morsi uterini comparsi 42 ore dopo il parto sono diminuiti di intensità un' ora dopo l'iniezione di papaverina e sono completamente scomparsi dopo due ore.

Cartella 1. *G. C. anni* 26-3 *febbraio* 1922.
Primipara, parto spontaneo a termine e secondamento normale.
Contrazioni spasmodiche dell'utero insorte poco dopo il parto tendono a diminuire dieci minuti dopo un' iniezione di papaverina, dopo mezz' ora sono completamente scomparse.

Cartella 1180. *G. S. B. anni* 28-6 *febbraio* 1922.
Secondipara, parto normale a termine, secondamento regolare. I morsi uterini bene manifesti alla distanza di dodici ore dal parto scompaiono totalmente un' ora dopo l'iniezione di papaverina.

Cartella 104. *A. M. P. anni* 22-12 *febbraio* 1922.
Secondipara, parto spontaneo a termine, secondamento regolare. Contrazioni dolorose insorte dieci ore dopo il parto, cessano completamente venti minuti dopo un' iniezione di papaverina. Ricomparse le doglie sei ore dopo, esse scompaiono di nuovo cinquanta minuti dopo una seconda iniezione di papaverina.

Cartella 412. *O. C. anni* 23-2 *Marzo* 1922.
Primipara, parto spontaneo a termine secondamento regolare, contrazioni uterine spasmodiche comparse 38 ore dopo il parto. Dopo mezz' ora dall' iniezione di papaverina esse tendono a diminuire d'intensità e dopo un' ora sono completamente scomparse.

Cartella 132. *E. D. P. anni* 30-4 *Marzo* 1922.
Terzipara, parto spontaneo a termine, secondamento regolare. Morsi uterini manifestatisi undici ore dopo il parto, cessano completamente a un' ora e mezzo di distanza da un 'iniezione di papaverina. Il giorno seguente manifestatesi nuovamente le contrazioni dolorose, esse scompaiono mezz'ora dopo una iniezione di papaverina.

Cartella 1274. *P. S. J. anni* 31-7 *Marzo* 1922.
Secondipara, parto spontaneo a termine secondamento normale. Contrazioni spasmodiche dell' utero apparse dieci ore dopo il parto : l'iniezione di papaverina fa diminuire la loro intensità dieci minuti dopo, esse però non scompaiono del tutto altro che due ore dopo. Ripresentatisi morsi uterini due giorni dopo il parto, essi sono fatti cessare in un 'ora dopo una seconda iniezione di papaverina.

Cartella 372. *C. V. anni* 25-14 *Marzo* 1922.
Primipara, parto spontaneo a termine normale. Secondamento regolare. Forti contrazioni dolorose dell' utero, insorte otto ore dopo il parto, scompaiono alla distanza di un' ora e venti minuti da un' iniezione di papaverina.

* * *

Iniezioni di Papaverina e Morfina.

Cartella 440. *C. O. anni* 26-2 *gennaio* 1922.
Minaccia d'aborto al 2° mese di gravidanza. L'inferma entra in clinica in vero e proprio travaglio abortivo con contrazioni uterine assai spiccate.
Dopo 15 minuti da un' iniezione di papaverina e morfina le contrazioni accennano a diminuire e dopo un' ora e mezzo esse sono completamente scomparse.

Cartella 1234. *N. B. anni* 27-17 *gennaio* 1922.
Minaccia d'aborto al 3° mese di gravidanza. Dopo dieci ore da un'iniezione di papaverina-morfina le contrazioni e i dolori uterini sono scomparsi completamente. Il giorno dopo, insorte nuove contrazioni esse non cessano altro che dopo una seconda iniezione praticata alla distanza di due ore dalla prima.

Cartella 403. *F. B. anni* 27-12 *Febbraio* 1922.
Primipara, parto spontaneo a termine secondamento normale. Una prima iniezione di papaverina e morfina eseguita poco dopo l'insorgenza di morsi uterini, li fa cessare dopo 3 ore. Due giorni dopo ricomparse nuovamente contrazioni spasmodiche dolorose sono fatte cessare da una seconda iniezione dopo circa un' ora.

Cartella 408. *L. D. N. anni* 30-8 *Marzo* 1922.
Secondipara parto normale a termine secondamento normale. Dopo 45 minuti da un' iniezione di papaverina e morfina, le contrazioni spasmodiche e dolorose dell'utero, insorte dieci ore dopo il parto, scompaiono completamente.

Cartella 1290. *E. P. B. anni* 31-15 *Marzo* 1922.
Secondipara, parto spontaneo a termine, secondamento normale. Morsi uterini iniziatisi 14 ore dopo il parto: scompaiono completamente alla distanza di 30 minuti da un' iniezione di papaverina e morfina.

Cartella 1336. *C. M. B. anni* 38. 16 *Marzo* 1922.
Secondipara, parto normale e secondamento regolare. Venti minuti dopo una iniezione di papaverina e morfina, marcate contrazioni spastiche dolorose dell' utero cessano completamente: riappaiono brevemente dopo circa un' ora.

Cartella 1257. *B. C. P.* 37-16 *Marzo* 1922.
Secondipara, parto spontaneo normale a termine, secondamento regolare. Morsi uterini comparsi circa dodici ore dopo il parto cessano completamente venti minuti dopo un' iniezione di papaverina e morfina.

* * *

Iniezioni di Spasmalgina.

Cartella 388. *G. M. anni* 25-13 *Novembre* 1921.
Primipara, parto distocico per lieve viziatura pelvica, secondamento regolare. I morsi uterini comparsi otto ore dopo il parto, vanno molto lentamente diminuendo dopo un' iniezione di spasmalgina.

Cartella 150. *E. T. F. anni* 35-2 *Febbraio* 1922.

Secondipara, parto normale a termine, secondamento regolare. Un' iniezione di spasmalgina praticata appena insorte le contrazioni spasmodiche e dolorose dell' utero, riesce completamente negativa.

Cartella 137. *G. P. R. anni* 23-14 *Febbraio* 1922.

Primipara, parto normale a termine secondamento regolare. Morsi uterini comparsi circa otto ore dopo il parto, diminuiscono gradatamente d'intensità trenta minuti dopo un' iniezione di spasmalgina, ma non scompaiono. Sei ore dopo si pratica suna seconda iniezione, dopo di che nello spazio di venti minuti, si verifica la cessazione di qualunque dolore.

Cartella 171. *O. P. F. anni* 23-16 *Marzo* 1922.

Primipara, parto spontaneo a termine, secondamento normale. Contrazioni pastiche dolorose insorte dodici ore dopo il parto, diminuiscono gradatamente dopo mezz' ora da un' iniezione di spasmalgina e scompaiono del tutto dopo un' ora.

Cartella 175. *R. B. M. anni* 31-22 *Febbraio* 1922.

Terzipara, parto normale a termine secondamento regolare. Morsi uterini comparsi sei ore dopo il parto diminuiscono rapidamente d'intensità un' ora dopo una iniezione di spasmalgina.

* * *

Iniezioni di Paunevrol.

Cartella 481. *C. C. M. anni* 27-17 *Maggio* 1923.

Secondipara, parto a termine, secondamento normale. In seconda giornata di puerperio e in corrispondenza di forti contrazioni spasmodiche uterine, si pratica un' iniezione di paunevrol (uso medico) : le contrazioni cessano 20 minuti dopo ma ricompaiono due ore dopo con uguale intensitá.

Cartella 482. *A. G. S. anni* 23-17 *Maggio* 1923.

Primipara, parto normale a termine, secondamento normale. Otto ore dopo il parto si pratica un' iniezione di paunevrol, in corrispondenza dell' apparire di morsi uterini. Questi continuano senza alcuna modificazione della loro intensità per quaranta minuti, poi cessano completamente e bruscamente, ma riappaiono tali e quali novanta minuti dopo.

Cartella 447. *A. E. G. anni* 26-12 *Maggio* 1923.

Primipara, parto normale a termine e secondamento normale. Un' iniezione di paunevrol praticata dodici ore dopo il parto, per caratteristici morsi uterini li attenua soltanto dopo un' ora dall' iniezione : una seconda iniezione somministrata due ore dopo la prima, non modifica le contrazioni suaccennate.

Cartella 484. *B. C. A. anni* 25-17 *Maggio* 1923.

Primipara, parto a termine e secondamento normale. Un' iniezione di paunevrol praticata venti ore dopo il parto, in corrispondenza di forti contrazioni spasmodiche dell' utero, riesce a farne diminuire soltanto l'intensitá.

* * *

Iniezioni di Peronina.

La peronina somministrata in dose di gr. 0,02 per via sottocutanea in due casi di minaccia d'aborto al III mese (travaglio abortivo) e in 7 casi di contrazioni spasmodiche dell' utero poche ore dopo il parto (morsi uterini) ci ha dato risultato completamente negativo.

* * *

Somministrazione orale di Validolo.

Cartella 275. *M. C. B. anni* 34-2 *Aprile* 1922.

Secondipara parto normale a termine secondamento regolare. Quattro ore dopo il parto, essendo insorte contrazioni dolorose spasmodiche dell' utero, si somministrano cinquanta goccie di validolo : dopo circa un' ora, i dolori sono completamente scomparsi.

Cartella 270. *J. T. B. anni* 27-3 *Aprile* 1922.

Secondipara, parto normale a termine secondamento regolare. La somministrazione di goccie 50 di validolo fa diminuire gradatamente forti contrazioni spastiche dolorose dell' utero cinquanta minuti dopo. Esse riappaiono peró in breve e non risentono affatto l'effetto di una seconda somministrazione simile alla prima.

Cartella 272. *M. B. P. anni* 28-7 *Aprile* 1922.

Secondipara, parto spontaneo a termine, secondamento regolare. Morsi uterini comparsi dieci ore dopo il parto diminuiscono d'intensità mezz'ora dopo la somministrazione di goccie cinquanta di validolo, ma non si riesce peró a farle scomparire del tutto.

Cartella 231. *M. P. L. anni* 33-15 *Aprile* 1922.

Secondipara, parto normale spontaneo a termine, secondamento regolare. Forti doglie uterine (morsi) insorte in seconda giornata di puerperio, cessano gradatamente dopo un' ora dalla somministrazione di goccie 50 di validolo. Ricomparse con la primitiva intensità circa due ore dopo, cessano immediatamente dopo un' iniezione di papaverina.

Cartella 303. *J. M. D. anni* 30-20 *Aprile* 1922.

Primipara, parto normale a termine secondamento regolare. Contrazioni spasmodiche dell' utero comparse poche ore dopo il parto diminuiscono marcatamente d'intensità dopo un' ora dalla somministrazione di 50 gocce di validolo.

* * *

Dalle osservazioni cliniche deduciamo quanto segue :

« *Papaverina* ». — In linea generale si può concludere che le prove cliniche confermano qui le previsioni sperimentali. Le contrazioni uterine si calmano entro 1 /2-2 ore dall'iniezione, solo di rado occorre una seconda applicazione ; l'azione si prolunga per 6-48 ore e talvolta non si notano più contrazioni spasmodiche del muscolo.

« *Papaverina* e *Morfina* ». — Questa associazione non mostra alcun fatto che possa renderla preferibile alla semplice papaverina.

« *Spasmalgina* ». — (Hoffmann-La Roche, Basilea).
La sua azione talora è buona, ma qualche volta fallisce anche completamente.

« *Paunevrol*, (Molteni-Firenze). Questa associazione in cui manca la papaverina, difficilmente giunge a portare la calma uterina, e se anche vi perviene, il fatto è transitorio .

« *Peronina* ». — Questo alcaloide assai energico nelle applicazioni dirette sperimentali ha fallito in quelle cliniche.

« *Validolo* ». — Solo di rado porta alla calma assoluta, il più delle volte arreca solo una transitoria diminuzione.

* * *

Le esperienze nostre confermano così ancora una volta le osservazioni di PAL, CHEINISSE, KISS, POPPER sul potere antipasmodico della papaverina. Essa deve entrare a far parte della comune pratica clinica e terapeutica : con l'uso di essa aumenta il numero degli alcaloidi dell' oppio, che sino ad ora siano stati ritenuti di uso corrente in terapia.

BIBLIOGRAFIA.

ACCONCI. — *Folia Gynaec.* 1908.
BABEL. — *Rev. méd. Suisse romande* 1899.
BARBOUR. — *Journ. of.pharm. and. exp. ther.* 1915.
BARBOUR e COPENHAVER.—*Journ. of. pharm. and. exp. ther.* 1915.
BORDÉ. — *Boll. Scienze med. Bologna* 1892.
BOSSI. — *Annali Ost.* e *Gin.*, 1893.
BOSSI. — *Rif. Medica* 1899.
CAPPONE. — *XIII Congr. Ostr. e Gin.* 1907.
CAZZANI. — *Annali Ost. e Gin.* 1881.
CHEINISSE. — *Presse Méd.* 1923.
CHIDICHIMO — *Rend. Soc. Tosc. Ost. e Gin.* 1903.
» — *Arch. Ital. Gin.* 1904.
» — » » » »
» — *La Ginecologia* 1905.
» — » » »
» — » » »
» — » » »
CHIÒ. — *Accad. Med. Torino* 1922.

CHISTONI. — *Arch. Farmacol. Sperim.* 1922.
FALASCHI. — *Tip. Siena* 1873.
FERRONI. — *Annali Ost. e Gin.* 1902.
FRANÇOIS. — *Arch. intern. de pharmacod. ecce.* 1912.
FRANZ. — *Win. Klin. Woch.* 1917.
FRIGYER. — *Deut. Med. Woch.* 1923.
GADAMER. — *Lehr. der Intoxik.* Stuttgart 1906.
HANZLIK. — *Journ. of pharm.* 1920.
» » » 1921.
KISS. — *Deut. Med. Woch.* 1923.
LEUBUSCHER. — *Deut. Med. Woch.* 1892.
NEGRI. — *Lo Sperimentale* 1886.
NEGRI. — *Annali Ost. e Gin.* 1889.
NICCOLINI. — *Arch. inter. de pharmacod.* 1922.
PAL. — *Deut. Med. Woch.* 1914.
» — *Wien. Klin. Woch.* 1912.
» » » » 1913.
PILCHER, DELZELL E BURMANN. — *Journ. of. Amer. m. ass.* 1916.
PINZANI. — *Boll. Scienze Med Bologna Vol. XX.*
» » » » » *Vol. XXIII.*
POPPER. — *Wien. Klin. Woch.* 1914.
REZZA. — *Lucina* 1903.
SCHMIDT E GRÄFE. — *Handb. der biol.* (teil. 9) 1920.
SIMULA. — *Tip. Sarda. Sassari* 1874.
SOLI. — *Rass. Ost. e Gin.* 1907.
ZANDA. — *Arch. inter. de pharmacod.* 1910.

Influence des ions et de quelques substances pharmacodynamiques sur le cœur d'Aplysia limacina

PAR

C. HEYMANS.

L'influence des ions sur les fonctions cardiaques a été étudiée principalement sur le cœur des vertébrés ; les investigations du même ordre chez les invertébrés sont plus rares et pourtant le rôle des différents ions dans le fonctionnement du cœur ne pourra être précisé qu'après une étude comparée chez les animaux inférieurs.

Aussi avons-nous profité de notre séjour à la Station Zoologique de Naples pour étendre ces recherches au cœur isolé de l'Aplysia limacina.

Les résultats, obtenus à l'aide de liquides dont la composition ionique a été modifiée, sont consignés dans la première partie de ce travail ; dans une seconde partie, nous décrivons quelques actions toxicologiques.

Pour s'orienter sur l'anatomie et la physiologie du cœur de l'Aplysia nous renvoyons aux publications de DOGIEL (1), SCHOENLEIN (2), STRAUB (3), BOTTAZZI (4), MAZARELLI (5) et CARLSON (6). Qu'il nous suffise de signaler que SCHOENLEIN, STRAUB (7) et L. FREDERICQ (8) déterminèrent déjà, sur le cœur isolé de cet animal, l'action de la température, de la réplétion, de l'anhydride carbonique, de l'excitation électrique et de la concentration moléculaire du liquide nourricier. Par contre, l'action des ions a été étudiée par CARLSON (9) sur le cœur de Limulus, par ROGER (10) sur Brachynotus nudus, par POLIMANTI (11) sur Maja verucosa, par EVANS (12) sur Helix pomatia, par H. FREDERICQ (13) sur Octopus, par W. KOCH (14) et TEN CATE (15) sur Anodonta. A ces recherches, peuvent se rattacher celles qui ont trait au rôle de la composition ionique de l'eau de mer, sur les fonctions physiologiques de certains invertébrés ; telles les expériences de J. LOEB (16), QUINTON (17), HERBST (18), MAYER (19), BETHE (20), etc.

TECHNIQUE.

De grands spécimens d'Aplysia limacina (500-1200 gr.) sont incisés longitudinalement du côté dorsal, étalés et fixés; le cœur entouré de son péricarde se découvre aussitôt sur la paroi ventrale. Le cœur d'Aplysia se compose d'une cavité auriculaire, recevant le sang des branchies, à laquelle fait suite le ventricule : de celui-ci se détache l'aorte et la crista aortæ. Le cœur est isolé et préparé d'après la méthode de STRAUB (21), c.-à-d. on incise le péricarde, on pose une ligature au niveau du sinus aortique ; puis l'oreillette est incisée et une canule est introduite à travers l'oreillette jusque dans le ventricule. Le cœur ainsi préparé est excisé ; suspendu à la canule vide, il ne présente aucune contraction ; il faut, comme l'ont signalé SCHOENLEIN et STRAUB, que le ventricule se trouve en état de réplétion pour que des contractions rythmiques se produisent. Comme liquide nourricier du cœur nous avons employé la solution d'eau de mer artificielle d'après la formule de VAN 'T HOFF, soit 100 cc. Na Cl, 1,5 cc. Ca Cl^2, 2,2 cc. KCl, 7,8 cc. $MgCl^2$, 3.8 cc. $MgSO^4$: chacune des solutions étant isotonique avec l'eau du Golfe de Naples (NaCl 0,6 Mol.) ; à un litre de ce mélange on ajoute 0,20 g. de $NaHCO^3$: les différents produits sont chimiquement purs (Kahlbaum) (1). Une telle solution est très rapprochée au point de vue chimique et physique du sang d'Aplysia; en effet le sang de ce mollusque, comme celui de la plupart des invertébrés, possède, ainsi que les analyses de différents auteurs (QUINTON, L. FREDERICQ, BOTTAZZI, etc.) l'ont montré, une composition chimique très voisine de celle de l'eau de mer. La quantité de liquide introduite dans la canule, et déterminant la réplétion cardiaque, varie de 3 à 5 cc. d'après les dimensions du cœur.

Cette technique permet au cœur isolé de l'Aplysia de se contracter rythmiquement pendant des heures, sous une pression constante et avec une quantité minime de solution à composition chimique bien définie. Pour déterminer l'action d'une modification du liquide nourricier, il suffit de vider la canule et d'y substituer la solution à examiner.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Le cœur isolé d'Aplysia présente des contractions énergiques, régulières d'une fréquence de 40 à 50 contractions par minute. Examinons successivement l'influence de la suppression et de l'excès de chacun des 4 ions constituant la solution de v. H.

Action du calcium. Lorsqu'on perfuse le cœur de grenouille avec une solution de RINGER dépourvue de calcium, on observe rapidement une diminution d'amplitude et de fréquence, suivie de l'arrêt diasto-

(1) Nous désignons dans la suite la solution de van 't Hoff par v. H.

lique; l'excès de calcium produit au contraire une stimulation énergique allant jusqu'à la contracture. Sur le cœur d'invertébrés, CARLSON signale chez Limulus une action inhibitrice du calcium en excès ; EVANS indique la même action sur le cœur d'Helix pomatia, tandis que KOCH montre que de petites doses de calcium stimulent le cœur d'Anodonte tandis que des doses plus élevées l'inhibent.

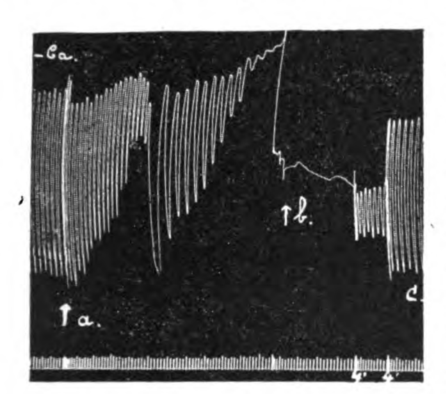


Figure 1.

Aplysia lim. (550 gr.), cœur isolé, les temps de toutes les figures sont marqués en secondes.
a : solution de v. H. sans calcium.
b : solution de v. H. normale.
c : cœur après 8 m. et plusieurs lavages avec solution normale de v. H.

La figure 1 nous montre comment le cœur d'Aplysia se comporte lorsqu'il est perfusé par une solution sans calcium ; on observe aussitôt une réaction de contracture suivie d'une phase de ralentissement cardiaque avec contracture progressive jusqu'à l'arrêt systolique. Le retour à la solution de v. H. normale produit un relâchement de la contracture, mais il faut des lavages répétés pour que le cœur reprenne progressivement ses contractions normales.

Sous l'action d'un excès de calcium, le cœur d'Aplysia présente une première phase d'augmentation d'amplitude accompagnée d'un ralentissement très marqué ; après quelques contractions le cœur s'arrête en diastole (fig. 2). Si l'excès de calcium est plus considérable le cœur s'arrête immédiatement sans présenter la phase d'augmentation d'amplitude.

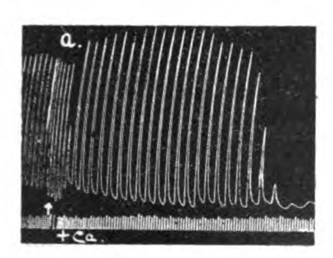


Figure 2.

Aplysia lim. (800 gr.), cœur isolé,
a : addition de 1/2 cc. $CaCl^2$ 6.6 0/0.

Le calcium est donc un élément important du liquide nourricier du cœur d'Aplysia : pour résumer, l'absence de calcium entraîne l'arrêt systolique précédé d'un ralentissement notable, l'excès de calcium produit l'arrêt diastolique. Le calcium est donc nécessaire à l'excitabilité cardiaque ; la contracture systolique secondaire en absence de calcium est probablement due à l'action sur la fibre musculaire des autres ions (K et Na) non compensés.

Action du potassium. On sait que le potassium est un ion indispensable au cœur de grenouille; un Ringer sans potassium produit, après un certain temps, l'arrêt diastolique ; en présence d'un léger excès de potassium le cœur de grenouille s'arrête en diastole ; il en est de même

chez Limulus d'après CARLSON. Le manque de K ou un faible excès de K n'auraient pas d'influence sur le cœur d'Helix pomatia (EVANS) tandis que, d'après KOCH, en l'absence de K, le cœur d'Anodonte s'arrête en systole.

La figure 3 nous indique comment le cœur d'Aplysia réagit en l'absence de K ; on observe que l'amplitude des contractions diminue et qu'après plusieurs lavages avec la solution de VAN 'T HOFF sans K, le cœur d'Aplysia ne présente plus que des contractions faibles en état diastolique, néanmoins la fréquence n'est pas modifiée. L'action d'un excès de K nous est donné par la figure 4 et 5. Si on double la quantité de potassium dans la solution de v. H., le cœur s'accélère et le tonus est légèrement augmenté (fig. 4, a); si on triple la dose de K le tonus augmente davantage mais la hauteur de la systole est diminuée (fig. 4, b). Quatre doses de potassium entrainent l'arrêt diastolique (fig. 4. c). Mais si on augmente encore la quantité de potassium de la solution, on observe que six fois la dose normale produisent l'arrêt des contractions en position systolique moyenne (fig. 5, a) et que sept doses de K entrainent l'arrêt en contracture systolique complète (fig. 5, b).

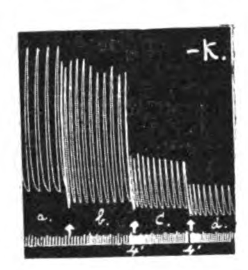
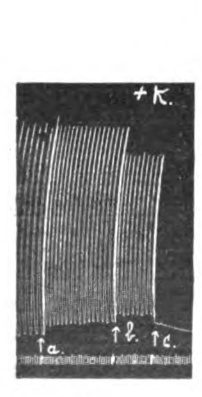


Figure 3.

Aplysia lim. (950 gr.), cœur isolé.
a : solution de v. H., normale.
b : solution de v. H., sans K.
c, *d* : cœur après des lavages successifs avec la solution de v. H. sans K.

L'action d'un excès de K sur le cœur d'Aplysia varie donc notablement suivant la dose; en résumé, un léger excès accélère le cœur et augmente son tonus, une dose moyenne arrête le cœur en diastole, un fort excès produit la contracture systolique. L'action inhibitive des doses moyennes doit être rattachée à l'action paralysante du K sur l'excitabilité et la conductibilité intracardiaque comme R. KOLM et E. PICK (22) l'ont démontré pour le cœur de grenouille, tandis que l'action contracturante des doses fortes est due à l'action du K sur la fibre musculaire.



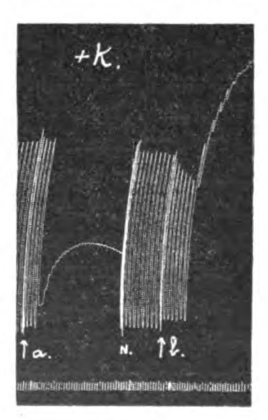


Figure 4. Figure 5.

Aplysia lim. (800 gr.), cœur isolé.
Fig. 4. — *a* : solution de v. H., renfermant 2 fois la dose normale de K.
b : solution de v. H., renfermant 3 doses de K.
c : solution de v. H., renfermant 4 doses de K.
Fig. 5. — *a* : solution de v. H., renfermant 6 doses de K.
N : retour à la sol. v. H. normale.
b : solution de v. H., renfermant 7 doses de K.

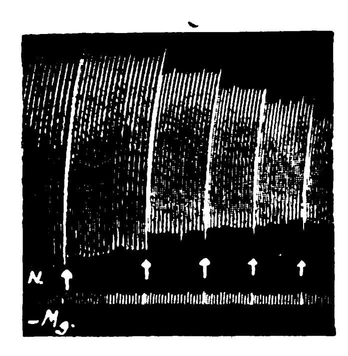


Figure 6.

Aplysia lim. (700 gr.), cœur isolé.
N : cœur normal.
↑ : lavages successifs avec solution de v. H., sans magnésium.

Action du Magnésium. D'une manière générale le magnésium est un ion paralysant; différents auteurs ont pu l'observer chez la Grenouille, le Limulus, l'Anodonte, l'embryon de Fundulus, les méduses, etc. Si nous supprimons le magnésium dans le liquide nourricier du cœur d'Aplysia, celui-ci présente une forte stimulation, le tonus augmente (fig. 6), le cœur s'accélère et après un certain temps s'arrête en état systolique. Nous avons pu faire la même observation sur le cœur d'Octopus vulgaris. L'excès de magnésium produit au contraire une forte e- rapide dépression, le cœur s'arrête en diast tole (fig. 7). L'ion de magnésium est donc normalement un inhibiteur de l'excitabilité et de la contractilité.



Figure 7.

Aplysia lim. (600 gr.), cœur isolé.
a : addition de 1/2 cc. $MgCl^2$ isoton. (12.2 °/₀).

Action du Sodium. Le sodium est un élément essentiel de l'eau de mer, son rôle est d'ailleurs primordial. On ne peut songer à supprimer le sodium du liquide nourricier sans troubler profondément et altérer définitivement les tissus. C'est pourquoi nous nous occuperons uniquement de l'action d'un excès de sodium.

D'après CARLSON, le sodium est un stimulant énergique pour le cœur de Limulus; il en est de même pour le cœur d'Anodonte (KOCH). Le sodium nous a donné des résultats analogues chez le cœur d'Aplysia. L'excès de sodium entraine une augmentation du tonus cardiaque sans modifier la fréquence ni la hauteur de la systole (fig. 8). Si on remplace la solution de v. H. par une solution isotonique de Na Cl, on observe un arrêt rapide du cœur en contracture, fait déjà signalé par FREDERICQ L. Le sodium agit donc essentiellement sur le tonus myocardiaque.

Ces séries d'expériences indiquent donc que, tout comme la solution de Ringer pour le cœur de grenouille, l'eau de mer ou la solution de v. H. constitue pour le cœur d'Aplysia un milieu physiologiquement équilibré.

Le balancement ou équilibre ionique des solutions de Ringer pour les vertébrés a fait l'objet de bien des recherches. Quelques travaux sur ce sujet ont également porté sur des invertébrés, principalement

ceux de J. LOEB sur Fundulus; de BETHE sur la méduse Rhyzostoma, de W. KOCH sur le cœur d'Anodonte.

Nous avons également fait sur le cœur d'Aplysia quelques déterminations sur l'action désintoxicante réciproque des différents sels de l'eau de mer.

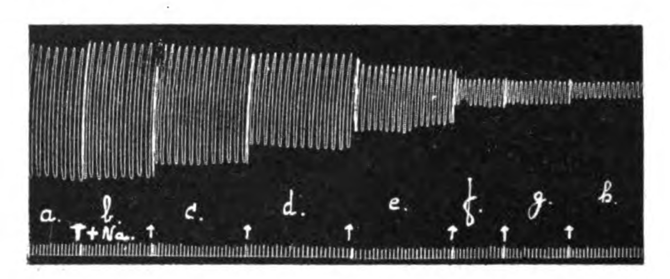


Figure 8.

Aplysia lim. (700 gr.), cœur isolé.
a : cœur normal, solution de v. H. : 100 Na Cl,, 1.5 Ca Cl^2, 2.2 K Cl, 7.8 Mg Cl^2, 3.8 Mg SO^4.
b : solution : 150 Na Cl, 1.5 Ca Cl^2, etc.
c : solution : 250 Na Cl, 1.5 Ca Cl^2, etc.
d, e, f, g : solution : 300 Na Cl, 1.5 Ca Cl_2 etc.
h : solution : 350 Na Cl, 1.5 Ca Cl^2 etc.

Expérience : Aplysia lim. (1000 gr.). Cœur isolé.

a) le remplacement de la solution de v. H. par une solution renfermant le triple de la dose normale de Na soit 300 Na Cl, 1.5 Ca Cl^2, 2.2 KCl, 7.8 Mg Cl^2, 3.8 Mg SO^4 produit la contracture.

b) la solution normale est remplacée par : 300 Na Cl (triple de Na) 3.0 $CaCl^2$ (double de Ca) etc., le cœur s'arrête en diastole, donc l'action de Ca domine.

c) la solution normale est remplacée par : 300 Na Cl, 2.25 Ca Cl^2, 2,2 KCl etc., le cœur ne présente plus que de très légères modifications.

Cette expérience montre qu'un excès de calcium peut compenser l'excès de Na, et cela dans la rapport approximatif de 1 partie de $CaCl^2$ pour 260 parties de Na Cl.

Expérience : Aplysia lim. (950 gr.). Cœur isolé :

a) le remplacement de la solution de v. H. par une solution renfermant le double (2 Na) de la dose normale de Na produit une contracture manifeste.

b) la solution de v. H. à 2 Na et quatre doses de Mg Cl^2 ne produit pas de modification du cœur ; moins de Mg laisse prédominer l'action contracturante du Na, plus de Mg au contraire produit une action diastolique.

Le magnésium équilibre donc le sodium et ce dans le rapport de $\frac{Na}{Mg} = \frac{1}{15}$. L'excès de sodium ne se laisse pas neutraliser par un excès de K; une petite dose de K renforce l'action contracturante du sodium, de plus fortes doses suppriment la contracture, mais le cœur finit par s'arrêter en diastole ; cette observation fait présumer des modes

d'action différents du sodium et du potassium; le sodiu m agit en effet, d'une manière générale, sur le tissu musculaire qu'il stimule ; le potas sium a une action stimulante primaire sur l'excitabilité cardiaque mais une action paralysante diastolique secondaire qui, pour de fortes doses de K, est dominée par l'acfion conttacdurante sur la ƞbre musculaire.

Il en est de même pour l'excès de calcium, celui-ci peut être neutralisé par le sodium, mais non par du potassium. Ceci confirme que certains ions agissent soit sur l'élément nerveux, soit sur l'élément musculaire ; d'autres, tels K et Ca, ont une action sur les deux éléments, et ces actions peuvent être différentes et opposées, mais aussi se superposer et s'enchevêtrer; nous n'en observons que la résultante. L'action peut également être prédominante pour telle dose sur l'élément nerveux, et pour une dose plus élévée viendra s'y joindre une action sur l'élément musculaire, comme nous l'avons observé pour le potassium. Ceci nous indique pourquoi la rupture de l'équilibre ionique d'une solution physiologique ne se laisse que rarement rétablir par une augmentation de la concentration ionique unilatérale.

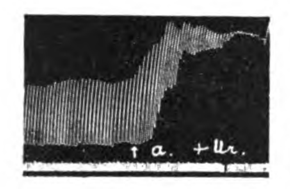


Figure 9.

Aplysia lim. (850. gr.) cœur isolé.
a : addition de 0,5 cc. d'une solution 0.6 M. de nitr. d'uranium.

Nous avons ensuite examiné l'influence de quelques sels qui ne sont pas renfermés normalement dans l'eau de mer. Le premier fut l'*uranium* : nous avons essayé de le substituer au potassium mais, avec la méthode employée, les résultats furent négatifs. De petites doses d'uranium ne rétablissent pas les contractions d'un cœur d'Aplysia arrêté par manque de K et, si on augmente la dose, le muscle cardiaque se met en contracture progressive (fig. 9).

Strontium : l'addition d'un sel de strontium produit, comme le montre la fig .10, une augmentation de l'amplitude à petite dose (fig. 10a), et une accélération avec hypertonicité si la quantité est plus notable (fig. 10b). Le strontium est donc un stimulant pour le cœur d'Aplysia.

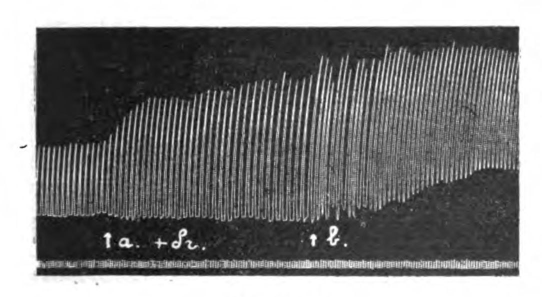


Figure 10.

Aplysia lim. (900 gr.), cœur isolé.
a : 2 gouttes de brom. strontium (14.8 °/₀).
b : idem.

Sulfate de sodium : l'addition de ce sel au liquide de v. H. produit une forte augmentation du tonus pouvant aller jusqu'à la contracture; cette action est à rattacher et à

comparer à celle que produit la suppression du calcium dans le liquide nourricier du cœur.

Lithium : cet ion entraine rapidement des irrégularités cardiaques, accompagnées de ralentissement ; il est très nuisible pour le cœur d'Aplysia, il faut en effet de très nombreux lavages avec la solution normale pour rétablir le cœur.

Action de substances pharmacodynamiques.

Carlson (6) étudia l'influence de différents alcaloïdes et glucosides sur le cœur et le ganglion cardiaque du Limulus et sur le cœur d'une série d'invertébrés; Evans (12) détermina l'action de la strophantine et de la muscarine sur le cœur de Helix pomatia, Ten Cate (15) de la muscarine, nicotine, pilocarpine, atropine, adrénaline et cocaïne sur le cœur d'Anodonte. Straub (21) étudia la curarine, la strychnine et la muscarine chez l'Aplysia. Nous comparerons leurs observations avec celles obtenues dans nos expériences.

Nous nous sommes servi de la même technique que dans les expériences exposées plus haut, la substance à étudier est ajoutée au liquide de la canule.

Muscarine : la muscarine produit l'arrêt diastolique et confirme les résultats déjà signalés par Straub chez l'Aplysia; en outre l'atropine n'a pas d'action antagoniste.

Acétylcholine. *Expérience* : Aplysia lim. (850 gr.) cœur isolé ; l'addition de 2 g^{ttes} d'acétylcholine Roche 1 $^{0}/_{00}$ aux 4 cc. de la canule produisent l'arrêt diastolique immédiat. L'addition d'atropine ne lève nullement l'action de l'acétylcholine ; seuls des lavages répétés avec la solution de v. H. rétablissent plus ou moins le cœur.

Nicotine. *Expérience* : Aplysia lim. (550 gr.) cœur isolé ; l'addition de 2 g^{ttes}. d'une solution de nicotine 1/400, produit l'arrêt diastolique (fig. 11). Ten Cate signala la même action sur le cœur d'Anodonte. Ce résultat est opposé à celui observé sur le cœur de Limulus (Carlson) où la nicotine stimule le cœur.

Figure 11.

Aplysia lim. (550 gr.), cœur isolé.
a : 2 gouttes de nicotine 1/400.

Curare. *Expérience* : Aplysia lim. (550 gr.) cœur isolé, l'addition de 1 cc. de curare Merck 1 % provoque l'arrêt diastolique. Il faut de fortes doses de curare pour mettre son action en évidence ;

STRAUB aura probablement employé des trop petites doses lorsqu'il signale l'inactivité de la curarine sur le cœur d'Aplysia. D'après CARLSON, le curare serait un tonique du cœur de Limulus.

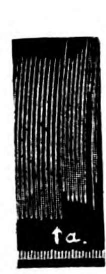
HISTAMINE. *Expérience* : Aplysia lim. (850 gr.) cœur isolé. L'addition au liquide (4 cc.) de la canule de 1 cc. d'histamine ROCHE à 1 °/₀₀ provoque une accélération cardiaque notable avec augmentation de l'amplitude (fig. 12). L'histamine possède donc une action dromo- et chronotropique positive.

Figure 12.

Aplysia lim. **(850 gr.), cœur isolé.**
a **: addition de 1 mgr. d'histamine.**

STRYCHNINE. STRAUB a déjà signalé son action sur le cœur d'Aplysia, où elle provoque une contracture passagère. Nous avons répété cette expérience ; Aplysia lim. (550 gr.) cœur isolé, l'addition de 2 gouttes d'une solution saturée de strychnine produit une élévation du tonus cardiaque sans modifier le rythme ni l'amplitude. La strychnine est donc un tonicardiaque chez l'Aplysia, comme elle l'est d'ailleurs chez la plupart des animaux.

ADRÉNALINE. *Expérience* : Aplysia lim. (850 gr.) cœur isolé ; deux gouttes de suprarénine ROCHE 1 °/₀₀ produisent une forte contracture passagère suivie d'une période d'accélération cardiaque notable et d'augmentation d'amplitude (fig. 13). L'adrénaline est donc un stimulant énergique du cœur d'Aplysia. D'après TEN CATE, elle serait au contraire un paralysant du cœur d'Anodonte.



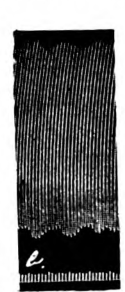


Figure 13.

Aplysia lim. **(850 gr.), cœur isolé.**
a **: 2 gouttes de suprarénine 1 °/₀₀ (Hoffmann-La Roche), contracture passagère non enregistrée.**
b **: suite du graph. *a*.**

STROPHANTINE. *Expérience* : Aplysia lim. (950 gr.) cœur isolé ; l'addition de 0,2 cc. Strophantine MERCK 1 % produit une forte augmentation du tonus et une accélération cardiaque. Le résultat est du même ordre que celui signalé par EVANS sur le cœur de Helix pomatia.

—

CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ.

1° En l'absence de Ca, les contractions cardiaques de l'Aplysia sont inhibées et le cœur s'arrête en contracture systolique ; le calcium est nécessaire à l'excitabilité et il est normalement un inhibiteur de la tonicité musculaire cardiaque. L'action d'un excès de calcium confirme cette interprétation : un léger excès produit un inotropisme positif passager par stimulation de l'excitabilité, suivi de l'arrêt diastolique par inhibition de la contractilité musculaire.

2° L'absence de K produit une diminution progressive de l'amplitude jusqu'à l'arrêt diastolique. L'action de l'excès de K varie d'après la dose, un léger excès produit l'arrêt diastolique qu'on peut rattacher à une inhibition de l'excitabilité; un grand excès produit l'arrêt systolique avec contracture progressive suite à l'action du K sur la fibre musculaire.

3° Le magnésium est normalement un inhibiteur de l'excitabilité et de la contractilité cardiaques, son absence accélère en effet le cœur et élève le tonus myocardique, son excès diminue la fréquence et l'amplitude jusqu'à l'arrêt diastolique.

4° Le sodium est un stimulant du tonus myocardiaque, mais n'agit pas sur la fréquence.

5° L'excès de sodium peut être neutralisé par un excès de magnésium ou de calcium.

6° Le calcium et le potassium ne neutralisent mutuellement que leur action sur la fibre musculaire cardiaque.

7° Le lithium, le curare, la muscarine, l'acétylcholine et la nicotine sont des inhibiteurs du cœur d'Aplysia.

L'atropine n'a pas d'action antagoniste vis-à-vis de la muscarine et de l'acétylcholine.

9° L'uranium, le sulfate de soude, l'histamine, la strychnine, l'adrénaline et la strophantine sont des stimulants du cœur d'Aplysia.

Nous tenons à exprimer ici à Monsieur le professeur Bottazzi notre vive gratitude pour toutes les facilités de travail qu'il nous a accordées à la Station zoologique de Naples.

BIBLIOGRAPHIE.

1. DOGIEL, J. — *Arch. f. micr. Anatomie*, Vol. 24, p. 59, 1877.
2. SCHÖNLEIN. — *Zeitschr. f. Biol.* p. 187, 1896.
3. STRAUB. — *Mitteil. aus der Zool. Station zu Neapel*, Vol. 16, p. 458, 1903-04.
4. BOTTAZZI. — *Boll. di Scienze Biol.*, Vol. 1, p. 1, 1899.
Arch. ital. Biol. Vol. 34, p. 111, 1900.
5. MAZZARELLI. — *Monographia delle Aplysidiæ del Golfe.*
6. CARLSON, A. J. — *Erg. der Phys.* Vol.8, p. 771, 1909.
Jn. of Gen. Physiol., Vol, IV, p. 559, 1922.
7. STRAUB, W. — *Pflüger's Arch.* Vol. 86, p. 504, 1901.
8. FREDERICQ, L. — *Arch. intern. Physiol.* Vol. 19, p. 309, 1922.
9. CARLSON, A. J. — *Am. Jn. of. Physiol.* 1906.
10. ROGERS, C. G. — *Jn. of Exp. Zool.*, Vol. 12, p. 237, 1905.
11. POLIMANTI, O. — *Arch. f. Anat. u. Phys.* p. 117, 1913.
12. LOVAT EVANS, C. — *Zeitsch. f. Biol.*, Vol. 59, p. 397, 1912-13.
13. FREDERICQ, H. — *Arch. int. Phys.*, Vol. 14, p. 126, 1914.
14. KOCH, W. — *Pflüger's Arch.*, Vol. 166, p. 281, 1917.
15. TEN CATE, J. — *Arch. Néerl. de Physiol.*, Vol. 8, p. 43, 187, 196, 1923.
16. LOEB, J. — *Jn. of Biol. Chem.* Vol. 1, p. 427, 1906.
Plügers Arch., Vol. 97, p. 324, 1903.
The dynamic of living matter, Colombia Univers. Press., 1906.
17. QUINTON. — *Eau de mer, milieu organique*, Paris, 1912.
18. HERBST. — *Arch. f. Entwick. des Org.* Vol.5, 7, 11, 17.
19. MAYER, A. G. — *Public. of the Carnegie Inst.*, n° 47.
20. BETHE, A. — *Pflüger's Arch.*, Vol. 124, p. 541, 1908, Vol. 197, p. 219, 1908.
21. STRAUB, W. — *Pflüger's Arch.* ,Vol. 98, p. 235, 1903.
22. R. KOLM u. E. PICK. *Pflüger's Arch.* Vol. 185, p. 235, 1920.

---

contrôle de la réaction actuelle des tissus animaux par les fils-indicateurs Une méthode pour le diagnostic de la mort p. 395 — S. Katzenelbogen. Recherches expérimentales sur l'action de l'arsylène, p. 407. Luigi Tocco. Sull avvelenamento per Carlina gummifera. — Nota IV. Ricerche chimiche e farmacologiche sopra alcuni sali e sui produtti di scissione dell' acido atractylico e loro azione in rapporto alla costituzione chimica. p 421 — G. Coronedi. Nécrologie de Riccardo Luzzato, p. 441. — J. F. Heymans et C. Heymans. Hyperthermie et augmentations du volume respiratoire et de l élimination de l'anhydride carbonique par le bleu de méthylène, (11 fig). p. 443

1923. Vol. XXVII. — Arthur Van Dessel, Répartition du chloroforme dans le sang, p 1. — Edgard Zunz et Alexis Delcorde. Recherches sur l'action de la codéine sur la digestion de la viande chez le chien, (2 fig.). p 23 — H. Ritz, Les alcoylarsinates dans la trypanosomiase expérimentale, p. 67. — R. Bruynoghe et R Appelmans, La neutralisation des bactériophages p. 81. — R Appelmans. Au sujet de la valeur thérapeutique des bactériophages, p 85. — B. Wiki, Recherches pharmacodynamiques sur les somnifères de la série barbiturique. 3 fig.), p. 117. — David I. Macht A pharmacological examination of benzaldehyde and benzilic acid. 9 fig), p 163 David I. Macht, A contribution to the chemical pharmacodynamic relationships of atropin and homatropin, 24 fig), p 175. — V E Henderson. On the action ot atropine on intestine and urinary bladder, (2 fig.). p 205 — Antonin Clerc et Pierre Noël Descamps, La quinine et la quinidine. Leur action comparée sur le cœur de chien *in situ*, 6 fig.), p. 213. — Chauncey D. Leake et Alfred E. Koehler, Blood reaction under morphine, (2 fig.), p 221 — W Burridge, Experiments with morphine, (7 fig), p 231. — W. Burridge, Note on the alcohol problem, 1 fig.). p. 239. — W Burridge Observations on antagonisms of excitability, (6 fig.), p. 243. — C Heymans, Le bleu de méthylène, antagoniste des excitants parasympatiques, (7 fig. . p 257. — Vittorio Suzanna, Azione della coffeina sulla frequenza delle pulsazioni cardiache, (5 fig), p 265. — Marcel le Fèvre de Arric. De l'action des colloïdes métalliques sur la toxine diphtérique, la staphylotoxine et la staphylolysine, (4 fig.) p. 277 — J. F. Heymans et C. Heymans Hyperdéperdition calorique pendant l'hyperthermie par le bleu de méthylène, 6 fig.) p 319. — George B. Roth Studies on the Autonomic System. I The Antagonism of the Stimulant Action of Barium Chloride on the Excised Surviving Small Intestine of the Frog (Rana Pipiens) by means of Epinephrin, Pilocarpin and Atropin (6 fig p 333. — W Burridge, Cardiac spasm and the spasm of anaphylactic shock, a paralell. (3 fig), p 347. — W Burridge. Experiments on the mode of action of Aconite, 9 fig.), p 353 — Luigi Tocco. Contributo sperimentale allo studio dei corpi filanti, p. 363. — E. Bardier & A Stillmunkès, La Syncope Adrénalino-chloroformique, (11 fig.), p 375. — Luigi Tocco, Modificazioni strutturali determinate dai cardiocinetici sugli elementi delle miofibrille, (18 fig . p 415 E Rothlin. Recherches expérimentales sur l'Ergotamine, alcaloïde spécifique de l'Ergot de Seigle, 24 fig) p. 459 — J. G Brody and Torald Sollmann, The effect et Quinidin and other Cinchona Alkaloide on Striped Muscle. 9 fig) p 481

1923. Vol. XXVIII — Paul Hauduroy. Sur laconstitution du Bactériophage de d'Hérelle et sur le mécanisme de la lyse, p. 1. — Luigi Tocco, Ricerche chimiche e farmacologiche sul principio attivo-glicirizzina della Liquorizia. Glycyrrhiza glabra *L*— Glycyrrhiza α tipica, *Reg. e Herd* , p. 11. W Burridge Experiments with pilocarpine, 7 fig), p. 23. — W. Burridge. Experiments with uranium. (4 fig.), p. 31. — W. Burridge. Experiments on the actions of Ringer's solution on the heart, (10 fig.), p. 37. — C. Heymans. La tachycardie et la tachypnée pendant l'hyperthermie par le bleu de méthylène (III pl). p. 51. — Pietro-Maria Niccolini Contributo allo studio farmacologico dell' emetina (Nota IIIa). (3 fig.), p 61. Emile Lenz, Mouvements intestinaux normaux et action péristaltogène des purgatifs antraquinoniques, (XII pl. — 103 fig.), p. 75. — J Wagemans. La recherche des Bactériophages dans la nature. p. 159. — J Wagemans. Sur la constitution des bactériophages et leur neutralisation p. 181 — H Depla. L'influence des matières colorantes sur les cultures. p 223. — P. Brutsaert. Contribution à l'étude de l'antigène du staphylocoque, p 235 — A J. Clark and Louis Gross The action of blood on insolated tissues, (9 fig.), p 243. — W Easson Brown and V. E Henderson, On Ethylene as an Anæsthetic (4 fig). p 257. — Luigi Tocco Sulle modificazioni che si osservano nelle miofibrille sotto l'azione dell' atropina. della pilocarpine della nicotina (3 fig.), p 265 — Luigi Tocco-Tocco. Sulle cause che modificano la reazione della strofantina, praticata facendo agire l'acido solforico. nei semi invecchiati p 289. — Luigi Bacialli e Pietro-Maria Niccolini. Contributo allo studio dell' azione farmacoterapeutica di alcuni narcotici. ipnotici. e antispasmodici sull' utero. (8 fig.), p 381 — C. Heymans, Influence des ions et de quelques substances pharmacodynamiques sur le cœur d'Aplysia limacina (13 fig.), p. 337.

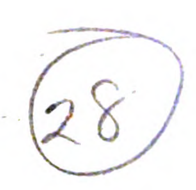
Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. XXVIII, fasc. III-IV.

MAISON D'EDITION L. VANDERPOORTEN, RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.

ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie



PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris et J.-F. HEYMANS, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

VOLUME XXVIII, FASCICULE V-VI

BRUXELLES
H. LAMERTIN, Éditeur,
58, rue Coudenberg

PARIS
O. DOIN, Éditeur
8, place de l'Odéon.

1924

Table des matières des volumes antérieurs.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. U. DI MESSINA.
(DIRETTORE: G. VINCI.)

Sull' azione del cloruro di Bario sul cuore di rana

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

(con 1 figura e due tavole).

In natura nihil absurduum.
AVERROÈ.

INTRODUZIONE.

Siccome non abbiamo conclusioni definitive sull'azione cardiocinetica delle sostanze del gruppo della digitale e sul modo di arrestarsi del cuore sotto la loro azione (1), alcuni autori hanno cercato portare qualche luce su questo discusso problema, studiando un farmaco, — il cloruro di bario — il quale, sino ad un certo punto, esercita sul miocardio un'azione che si avvicina a quella della digitale. Ad onta delle accurate ricerche in proposito, l'argomento non è ancora definito e, sebbene si ritenga generalmente che il cloruro di bario sia un veleno del miocardio e arresti il cuore di rana in sistole, ZUNZ (2), invece, in seguito a sue esperienze sul cuore isolato di tartaruga, osservò che esso può arrestarsi in diastole, sistole od emisistole; e POULSSON, avendo nelle sue ricerche ottenuto risultati costanti, confermò la teoria emessa dallo SCHMIEDEBERG dell'arresto del cuore in sistole se il farmaco è dato per via endocardica, in diastole, se per via esocardica; WERSCHININ poi, che studiò l'azione di questo farmaco in varia concentrazione, ritiene che l'arresto del cuore dipenda non dal modo di applicazione, ma dal quantitativo di farmaco: piccole dosi arrestano il cuore in diastole, forti dosi in sistole, sia che vengano somministrate per via endocardica, sia per via esocardica.

A. DELCORDE (1), nel 1913, fece su questo argomento delle ricerche sistematiche sul cuore isolato di tartaruga somministrando il farmaco sia all'interno che all'esterno del cuore, e, dall'insieme delle sue esperienze, egli venne alla conclusione che l'azione del cloruro di bario non è costante e il modo di arrestarsi del cuore dipende più dalla concentrazione del farmaco, che dal modo come è somministrato; così soluzioni da 1% a 1/400 arrestano il cuore in diastole, soluzioni più concentrate o più diluite, in sistole. In

altre ricerche sul cuore di rana in situ lo stesso A. notò che si aveva l'arresto in sistole se il farmaco era dato per via endocardica, mentre per via esocardica erano necessarie concentrazioni molto forti, da 1% a 1/400, di $BaCl^2$, per ottenere lo stesso effetto.

Nel 1921 LE FEVRE DE ARRIC (3), sperimentando per via endocardica sul cuore di tartaruga in situ, ripetè le ricerche che A. DELCORDE aveva fatto sul cuore di tartaruga isolato, e venne alle seguenti conclusioni che riporto per intiero: a qualunque concentrazione si studii l'azione endocardica del $BaCl^2$ sciolto nel liquido di Ringer sul cuore di Testudo Graeca in situ, si constata che questo sale agisce sul cuore come un elemento tetanizzante, e, nello stesso tempo, è atto a determinare la contrazione sistolica.

Le dosi forti portano un arresto sistolico definitivo, le dosi medie un arresto temporaneo, le dosi piccole delle semplici pause passeggiere.

L'azione del $BaCl^2$ si svolge cronologicamente in due fasi: la prima *tonica*, la seconde *tossica*.

Nelle esperienze con le forti dosi le manifestazioni tossiche dominano il quadro, nelle ricerche invece colle soluzioni deboli la prima fase, o tonica, si sviluppa lentamente, ed è possibile seguirla bene. Essa è caratterizzata da un rallentamento notevole del ritmo e da una esagerazione marcata dell'intensità delle sistoli. (Che il $BaCl^2$ determini un aumento dell'energia di contrazione e un allungamento della rivoluzione cardiaca è stato pure osservato da SCAFFIDI (4) nel 1908.)

La fase tonica non porta a morte l'organo. Essa presenta dei fenomeni di contrazioni passeggere, oppure, a lungo andare, degli attacchi di dissociazione che il lavaggio fa sparire del tutto.

Da quanto ho sin qui succintamente riferito, si può vedere che l'accordo su questa importante questione non è ancora raggiunto. Siccome gli AA. che mi hanno preceduto sono arrivati a conclusioni differenti, e sinora non abbiamo dati certi in proposito, io ho voluto pigliare in esame questo argomento, il che ho fatto usando una tecnica nuova, diversa da quelle usate dagli altri AA., la quale mi ha permesso di mettere in chiaro fatti nuovi e interessanti, l'interpretazione dei quali mi consentirà spiegare, sino a un certo punto e sotto forma di ipotesi, quale possa essere il meccanismo dell'azione che il $BaCl^2$ esercita sulle fibre del miocardio.

TECNICA.

Mi sono sopratutto preoccupato di mettermi in condizioni sperimentali tali, che l'azione del farmaco si eserciti esclusivamente sul miocardio e che questa azione si svolga il più lentamente possibile — dalle ricerche infatti di Le Fèvre de Arric si deduce che le piccole dosi spiegano una azione lenta, che è facile seguire nel suo sviluppo —, per essere l'assorbimento delle soluzioni, sia concentrate che diluite, ritardato. In tal modo mi sarebbe stato possibile seguirne

l'azione nei suoi dettagli, prima che l'esplodere dei fenomeni tossici avesse portato a morte l'organo.

Ho conseguito questi desiderata adottando un dispositivo sperimentale molto semplice, come si può vedere dando un'occhiata alla fotografia dell'apparecchio che riporto (fig. I.).

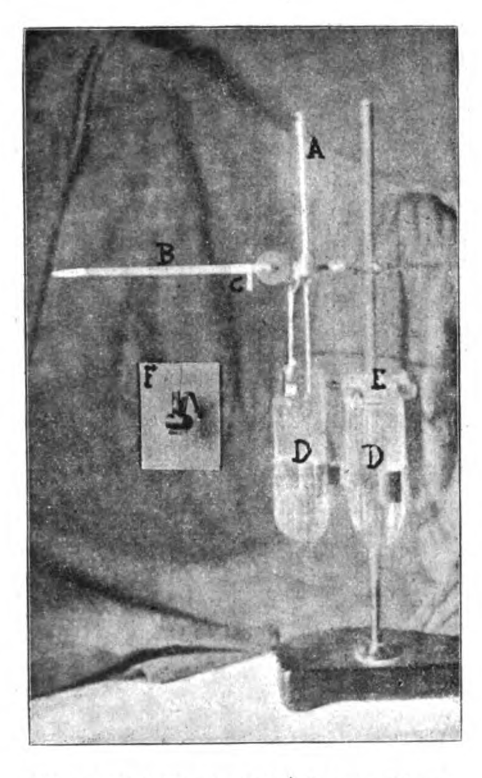


Fig. 1. F dettaglio della pinza cardiaca.

La tecnica è facile:

Si mette allo scoperto il cuore della rana (ho sperimentato su Esculenta, — di solito grossi maschi, — tenute da tempo in vivaio) e si dissangua completamente tagliando le aorte. Appena si è bene sicuri che il cuore è completamente vuoto, si serra, durante una diastole, l'apice in una delle pinzette (1) (Fig. I dettaglio); si solleva poi il cuore, e si taglia il più profondo possibile, in modo da asportare intiere le orecchiette.

Ciò fatto, si applica la seconda pinza, al margine delle orecchiette, se si vuole registrare tanto le contrazioni di queste che del ventricolo, al margine atrio-ventricolare se si vuole registrare solo le contrazioni del ventricolo. Applicando questa seconda pinza,

(1) Queste pinzette sono adoperate dai commercianti per attaccare sulle merci esposte al pubblico i cartellini coi prezzi.

bisogna assicurarsi che essa prenda e chiuda bene le aperture tagliate del cuore, in modo che non vi penetri dentro liquido. Si fissa la pinza applicata all'apice del cuore all'uncino del sostegno scorrevole A, e l'altra pinza ad un filo, di lunghezza già calcolata, in rapporto con l'estremità della leva equilibrata B.

Facendo scorrere in alto e in basso l'uncino di sostegno si regola la distensione del cuore in modo che la leva scrivente sia quasi orizzontale e si possa poi equilibrare esattamente col peso del cuore a mezzo di un cavaliere (C) spostabile su di essa. Si immerge tutto in uno dei recipienti D, — uno dei quali contiene soluzione di Ringer, l'altro soluzione di Ringer col $BaCl^2$ a varia concentrazione, — e in entrambi si fa gorgogliare aria od ossigeno. Quando un cuore é stato ben preparato, senza traumatismi eccessivi, pulsa in questo apparecchio per più di un giorno. Per passare il cuore dalla soluzione di Ringer normale in quella medicata, si abbassa il sostegno (E) dei recipienti, e, senza per nulla toccare il dispositivo del cuore, si muta recipiente.

Ho registrato le grafiche sulla carta affumicata di un tamburo girevole a velocità uguale per tutte le esperienze riportate.

Con questo metodo ho studiato l'azione sul cuore di soluzioni nel liquido di Ringer (formula data dal Gaglio), di $BaCl^2$ a varia concentrazione e precisamente alle concentrazioni di:

5/100, 2/100, 1/100, 1/200, 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/5000, 1/10000.

Con ogni concentrazione feci numerose esperienze, siccome i dati furono sempre concordanti, per non tediare il lettore con ripetizioni inutili e uniformi, riporto, per ciascuna concentrazione studiata, una sola esperienza e riunisco poi i risultati di tutte in un quadro riassuntivo.

ESPERIENZE.

Concentrazione 5/100. Cuore staccato, sospeso e immerso in soluzione di Ringer. — Tracciato normale: Pulsazioni cinque ogni 10".

— Si passa in soluzione baritica di Ringer 5/100. Dopo 10" le contrazioni diventano sempre più meno energiche. Dopo 3' 20" il cuore si arresta in sistole.

Concentrazione 2/100. — Cuore staccato, sospeso e immerso in soluzione diRinger. — Tracciato normale: Pulsazioni 15 ogni 20".

1° — Si passa in soluzione di Ringer — Bario 2/100. Dopo 8" le contrazioni diventano sempre più meno energiche (ritmo 12 ogni 20"). Dopo 1' 20" si arresta in sistole.

— Si passa in soluzione di Ringer e dopo qualche secondo ripiglia a battere contraendosi appena. Dopo 20' si ha un ritmo di 4 pulsazioni ogni 20" e una altezza di mm. 4.

2° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario. Le contrazioni si fanno subito più energiche (6 mm di altezza), ma poco dopo decrescono progressivamente. Il ritmo è pressoché uguale. Dopo 60" le sistole diventano sempre più meno alte, 3' dopo il cuore di arresta in sistole.

Concentrazione 1 /100. Cuore staccato, sospeso e immerso in soluzione di Ringer. — Tracciato normale : Pulsazioni 15 ogni 20″.

1° — Si passa in soluzione Ringer-Bario 1 /100. Dopo 20″ le sistole sono meno energiche. Pulsazioni 13 ogni 20″.

Dopo 6′ 40″ si arresta in sistole.

— Si lava e si passa in Ringer ; 14′ dopo comincia a battere, 25′ 30″ dopo pulsazioni 5 ogni 20″, altezza mm. 5.

2° — Si passa in soluzione Ringer-Bario.

Dopo 7″ altezza mm. 7. — Pulsazioni 5 ogni 20″ e tali si mantegono par 1′, 40″. poi cominciano a scendere.

Dopo 5′ 20″ si arresta in sistole.

Concentrazione 1 /200. — Cuore staccato, sospeso ed immerso in soluzione Ringer. — Tracciato normale : Pulsazioni 9 ogni 20 ″. Altezza mm. 10.

1° — Si passa in Ringer-Bario 1 /200.

10″ dopo le sistole sono meno energiche. Pulsazioni 11 ogni 20″. Altezza mm 8.

6′ dopo il cuore si arresta in sistole.

— Si lava e si passa in Ringer.

25′ dopo incomincia a battere ;

48′ 20″ dopo, abbiamo pulsazioni 4 ogni 20″, altezza mm. 2.

2° — Si passa in soluzione Ringer-Bario e subito cresce l'altezza della contrazione.

10″ dopo, pulsazioni 4 ogni 20″, Altezza mm. 5. 1′ 40″ dopo, abbiamo pulsazioni 4′ ogni 20″, altezza mm. 4.

4′ 40″ dopo, il cuore si arresta in sistole.

— Si lava e si ripassa in Ringer. 2′ dopo si rilascia lentamente.

12′ dopo, batte appena ; pulsazioni 4 ogni 20″, altezza mm. 2 circa.

3° — Si passa il Ringer-Bario.

Le pulsazioni crescono subito di altezza. 10″ dopo abbiamo : pulsazioni 4 ogni 20″, altezza mm, 5.

7′ dopo il cuore si arresta in sistole.

Contrazioni 1 /500.—Cuore staccato, sospeso e immerso in soluzione di Ringer.— Tracciato normale : Pulsazioni 7′ ogni 20″ — Altezza mm. 10.

1° — Si passa il cuore in soluzione di Ringer-Bario 1 /500.

10′ dopo leggiero aumento dell'ampiezza sistolica. Altezza mm. 12. Pulsazioni 8 ogni 20″. Il lavoro del cuore diminuisce progressivamente : 6′ dopo, Pulsazioni 7 ogni 20″. Altezza mm. 4-16′ dopo, il cuore è quasi arrestato in sistole.

— Si lava e si passa in Ringer, Ricompaiano quasi subito piccole contrazioni irregolari (Pulsazioni 6 ogni 20″, Altezza mm. 4).

14′ dopo, abbiamo Pulsazioni 6 ogni 20″. Altezza mm. 3.

2° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario. Si ha subito esagerazione dell'ampiezza sistolica : Pulsazioni 5. — Altezza mm. 6 ;

50″ dopo, l'altezza della contrazione cardiaca si riduce progressivamente ;

8′ dopo il cuore è di nuovo arrestato in sistole.

— Si lava e si passa in Ringer.

3′ dopo, si ha qualche leggiera contrazione.

13′ dopo pulsa irregolarmente. Pulsazioni 6 ogni 20″, altezza mm. 1, 5.

3° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario.

Le contrazioni aumentano di altezza. Pulsazioni 6 ogni 20″. Altezza mm. 6.

30″ dopo, il lavoro cardiaco diminuisce progressivamente ;

6′ dopo si arresta in sistole.

— Si lava e si passa in Ringer. Qualche secondo dopo ha contrazioni fibrillari.

15′ dopo, il cuore pulsa debolmente. Pulsazioni 8 ogni 20″. Altezza 2.

4° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario.

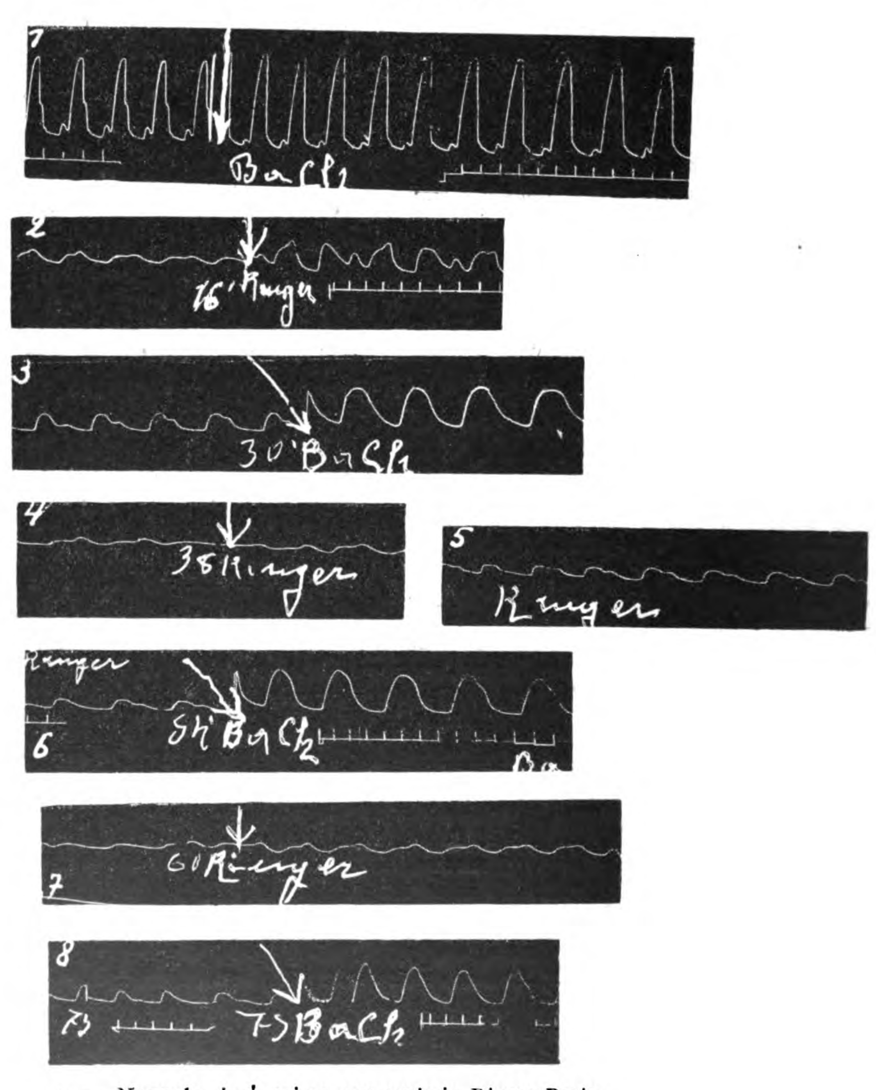
Si ha esagerazione immediata della forza di contrazione. Pulsazioni 7 ogni 20″ Altezza mm. 5.

20″ dopo, la energia di contrazione comincia a decrescere ;

5′ dopo, il cuore pulsa appena ed è quasi arrestato in sistole ;

10′ dopo, si arresta in sistole.

Conc. 1/500.



1, — Normale, in ↓ primo passaggio in Ringer-Bario.
2. — Passaggio da Ringer-Bario in Ringer.
3. — II, Passaggio da Ringer in Ringer-Bario.
4. — Passaggio da Ringer-Bario in Ringer — 5. — 10′ dopo
6. — III. Passaggio da Ringer in Ringer-Bario.
7. — Passaggio da Ringer-Bario in Ringer.
8. — IV. Passaggio da Ringer in Ringer-Bario.
(Il tempo batte ogni secondo.)

Concentrazioni 1 /1000. — Cuore staccato, sospeso e immerso in soluzione di Ringer. Tracciato normale : Pulsazioni 17 ogni 20″. Altezza mm. 10, 5.

1° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario 1 /1000.

10″ dopo, leggiero aumento dell'ampiezza delle sistoli. Pulsazioni 14 ogni 20″ Altezza mm. 12.

40″ dopo, le sistoli diminuiscono progressivamente di energia ; 40′ dopo, il cuore si arresta in sitole

— Si lava e si passa in Ringer.

Il cuore ripiglia a battere dopo qualche secondo . Pulsazioni 4 ogni 20″. Altezza mm. 5 ;

5′ dopo abbiamo : Pulsazioni 4 ogni 20″. Altezza mm. 7.

2° — Si passa in soluzione Ringer-Bario.

L'ampiezza delle sistoli diventa subito più grande. Pulsazioni 4 ogni 20″. Altezza mm. 9, 5.

10′ dopo, le contrazioni progressivamente diventano meno forti ;

23′ il cuore pulsa ancora debolmente : Pulsazioni 5 ogni 20″. Altezza mm. 3.

— Si lava e si passa in Ringer.

Le contrazioni diventano subito più energiche.

Pulsazioni 5 ogni 20″. Altezza mm. 7.

7′ dopo Puls. 4 ogni 20″ — Alt. 6 mm.

3° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario.

Le contrazioni diventano subito più forti :

20″ dopo, Pulsazioni 4 ogni 20″ — Altezza mm. 10.

10′ dopo, il cuore pulsa sempre energicamente. Pulsazioni 4 ogni 20″. Altezza mm. 8.

Concentrazioni 1 /2000. Cuore staccato sospeso e immerso in soluzione di Ringer. — Tracciato normale : Pulsazioni 16 ogni 20″. Altezza mm. 8.

1° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario 1 /2000.

Si ha subito un leggiero aumento dell'ampiezza della sistole. Pulsazioni 15 ogni 20″ Altezza mm. 9 ; subito dopo le contrazioni vanno progressivamente diminuendo di forza ;

12′ dopo, il cuore si è quasi arrestato in sistole : Pulsazioni 13 ogni 20″. Altezza di mm. 1.

— Si lava e si passa in Ringer. Le contrazioni diventano subito più energiche : Pulsazioni 7 ogni 20″. Altezza mm. 4.

8′ dopo, abbiamo Pulsaziori 7 ogni 20″. Altezza mm. 4.

2° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario.

Le contrazioni aumentano subito di energia. Pulsazioni 6 ogni 20″. Altezza mm. 6

10′ dopo, le contrazioni cominciano a essere meno forti e diminuiscono progressivamente di poco.

41′ dopo, Pulsazioni 4 ogni 20″. Altezza mm. 5.

— Si lava e si passa in Ringer. Le sistoli si fanno subito più energiche. Pulsazioni 3 ogni 20″. Altezza mm. 8, poi decrescono di poco.

15′ dopo, abbiamo Pulsazioni 3 ogni 20″. Altezza mm. 6.

3° — Si passa in Ringer-Bario. Aumento immediato dell'ampiezza delle sistoli Pulsazioni 3 ogni 20″. Altezza mm. 9.

10′ dopo, le sistoli diminuiscono progressivamente di altezza.

130′ dopo, il cuore pulsa sempre. Pulsazioni 3 ogni 20″. Altezza mm. 3.

Concentrazione 1 /5000 ; — Cuore staccato, sospeso e immerso in soluzione di Ringer. — Tracciato normale : Pulsazioni 12 ogni 20″ Altezza mm. 11.

1° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario 1 /5000. Subito progressivamente le sistoli diminuiscono di ampiezza, 12 ogni 20″. Altezza mm. 4.

10′ aumentano d'altezza ma diminuiscono di numero. Pulsaz. 7 ogni 20″. Altezza 5.

91′ dopo, abbiamo Pulsazioni 2 ogni 20″. Altezza mm. 6.

— Si lava e si passa in Ringer.

Subito le contrazioni si fanno molto energiche. Pulsazioni 2 ogni 20″. Altezza mm. 11. Poi decrescono lentamente.

11′ dopo, Pulsazioni 2 ogni 20″. Altezza mm. 6.

2° — Si passa in Ringer-Bario. Le sistoli diventano subito più energiche : Pulsazioni 3 ogni 20″. Altezza mm. 11.

13′ dopo, Pulsazioni 2 ogni 20″. Altezza mm. 10.

— Si lava e si passa in Ringer. Le sistoli si rendono subito più forti : Pulsazioni 2 ogni 20″. Altezza mm. 12.

3° — Dopo 2′ si ripassa in soluzione Ringer-Bario. Altezza mm. 13.

Concentrazione 1 /10000. — Cuore di rana staccato, sospeso e immerso in soluzione di Ringer. — Tracciato normale : Pulsazioni 16 ogni 20″. Altezza mm. 4.

1° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario 1 /10000. Le sistoli diminuiscono progressivamente di altezza. — 2′ dopo, Pulsazioni 7 ogni 20″. Altezza mm. 2.

— Si lava e si passa in Ringer. Aumento immediato della forza sistolica. Pulsazioni 7 ogni 20″. Altezza mm. 4.

5′ dopo, abbiamo Pulsazioni 3 ogni 20″. Altezza mm. 3.

2° — Si passa in soluzione di Ringer-Bario.

Subito si hanno contrazioni più energiche. Pulsazioni 3 ogni 20″. Altezza mm. 6.

4′ dopo, Pulsazioni 6 ogni 20″. Altezza mm. 4.

— Si lava e si passa in Ringer.

Le contrazioni diventano subito più ampie. Pulsazioni 6 ogni 20″. Altezza mm. 6.

4′ dopo, abbiamo : Pulsazioni 6 ogni 20″. Altezza mm. 4.

3° — Si passa in Ringer-Bario.

20″ dopo le sistoli sono più energiche. Pulsazioni 6 ogni 20″. Altezza mm. 6.

6′ dopo, Pulsazioni 4 ogni 20″. Altezza mm. 4.

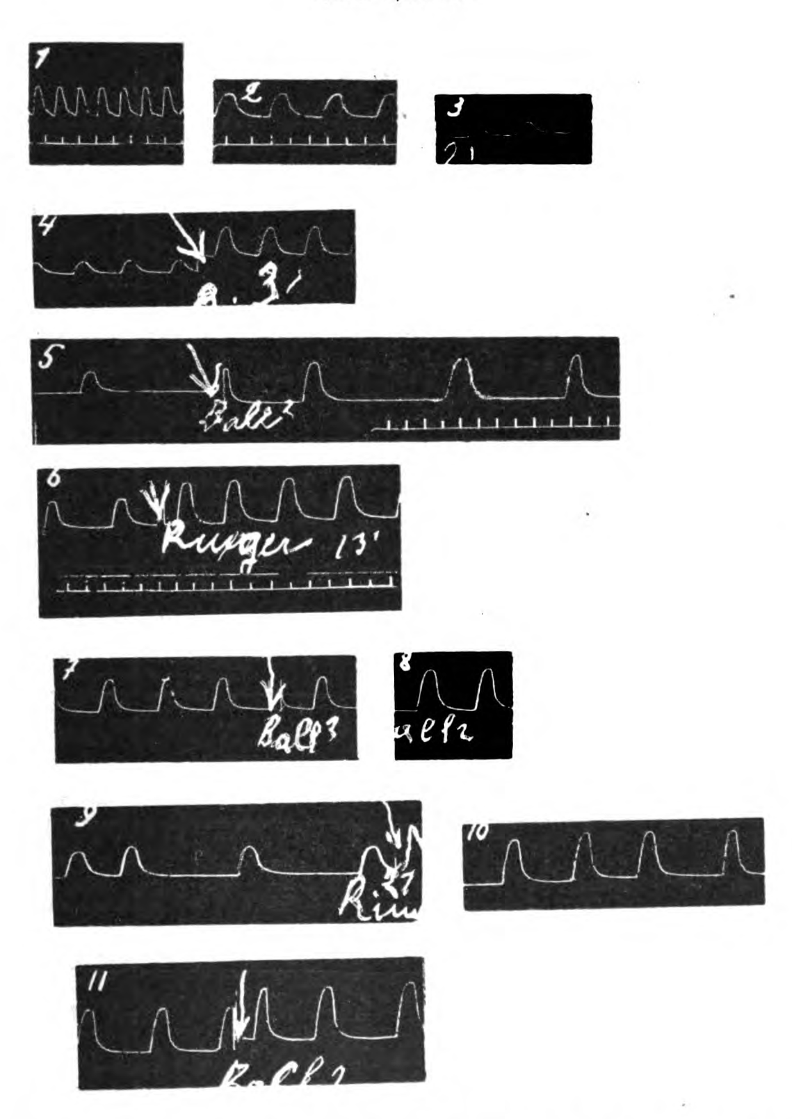
— Si ripassa in Ringer. Pulsazioni 4 ogni 20″. Altezza mm. 6-11′ dopo, altezza mm. 6.

4° — Si ripassa in soluzione di Ringer-Bario. Altezza mm. 8.

Come le contrazioni accennano a diminuire di ampiezza si passa il cuore successivamente in Ringer e poi in soluzione Ringer-Bario e cosi di seguito.

In ogni passaggio si nota un aumento dell'altezza della sistole.

Conc. 1/10000.



1. — Normale — 2 — primo passaggio in Ringer-Bario — 3. — due m. dopo.
4. — Passaggio da Ringer-Bario in Ringer.
5. — II. Passaggio da Ringer in Ringer-Bario.
6. — Passaggio da Ringer-Bario in Ringer.
7. — III. Passaggio da Ringer in Ringer-Bario. — 8. — 10 sec. dopo.
9. — Passaggio da Ringer-Bario in Ringer, — 10. — 11' dopo.
11, — IV. Passaggio da Ringer in Ringer-Bario.
(Il tempo batte ogni secondo,)

Cuore normale			Concentrazione in $BaCl^2$,	I Passaggio in Ringer-Bario			I Lavaggio in Ringer			II Passagio in Ringer-Bario		
T	P	A		T	P	A	T	P	A	T	P	A
	5		5/100	3 m 20 s.	—	cs						
	15		2/100	1 m 203	—	cs	10 s 20 m.	 4	c 4	3 s 3 m.	4 —	6 cs
	15		1/100	20 s. 6 m. 40 s.	13 —	 cs	14 m. 25 m. 30 s.	— 5	c 5	7 s. 5 m. 20 s.	5 —	4 cs
	9	10	1/200	10 s. 6 m.	11 —	8 cs	25 m. 48 m. 20 s	— 4	c 2	10 s. 4 m. 40 s.	4 —	5 cs
	9	10	1/500	10 m. 6 m 16 m.	8 7	12 4 c	2 s. 14 m.	6 6	4 3	3 s. 8 m.	5 —	6 cs
	17	10.5	1/1000	10 s. 40 m.	14 —	12 cs	2 s. 5 m.	4 4	5 7	3 s. 23 m.	4 5	95 3
	16	8	1/2000	2 s. 12 m.	15 3	9 1	2 s. 8 m.	7 7	4 4	2 s. 41 m.	6 4	6 5
	12	11	1/5000	2 s. 11 m. 91 m.	12 7 2	4 5 6	2 s. 1 s.	2 2	11 6	3 s. 13 m.	3 2	11 10
	16	4	1/10000	2 m.	7	2	2 s. 5 m.	7 3	4 3	2 s. 4 m.	3 6	6 4

II Lavaggio in Ringer			III Passaggio in Ringer-Bario			III Lavaggio in Ringer			IV Passaggio in Ringer-Bario			Osservazioni
T	P	A	T	P	A	T	P	A	T	P	A	
												T = Tempo in minuti (m) e secondi (s.)
												P = Numero pulsazioni ogni 20 secondi.
												A = Altezza della sistole in mm.
2 m.	—	c	10 s.	4	5							cs = Contratto in sistole
12 m.	4	2	7 m.	—	cs							c = Contratture.
3 m.	—	c	2 s.	6	6	2 s.		c	2 s.	7	5	
13 m.	6	1.5	6 m.	—	cs	15 m.	8	2	10 m.	—	cs	
2 s.	5	7	20 s.	4	10							N. B. Nelle concentrazioni 1 /200 1 /500 durante il periodo di lavaggio in Ringer tutti i cuori arrestati in sistole si distendouo svolgendosi dalla cs.
7 m.	4	6	10 m.	4	8							
2 s.	3	8	2 s.	3	9							
15 m.	3	6	130 m.	3	3							
3 s.	2	12	4 s.		13							
2 m.	2	10										
2 s.	6	6	20 s.	6	6	2 s.	4	6	2 s.		8	
4 m.	6	4	6 m.	4	4	11 m	—	6				

RIASSUNTO DELLE PRECEDENTI ESPERIENZE.

Dalle esperienze sopra riportate, ed eseguite col nuovo metodo da me trovato, si può dedurre quanto segue :

a) le fortissime dosi (5 /100) arrestano permanentemente il cuore in sistole in qualche minuto.

b) Con le dosi forti, che corrispondono all'incirca a quelle di 2 /100 a 1 /500, il tempo necessario per arrestare il cuore, aumenta col diminuire della concentrazione, ma generalmente bastano pochi minuti (6), perchè il cuore resti contratto in sistole.

Il cuore fermato in sistole, col primo lavaggio in Ringer, dopo un tempo che varia a seconda dei diversi cuori e che può essere anche di 25 minuti, prima si rilascia svolgendosi lentamente dalla sua contrattura e poi comincia a presentare piccole contrazioni che man mano diventano sistoli più o meno energiche.

Se, quando si è certi che pulsa regolarmente da un certo tempo, si ripassa questo cuore per la seconda volta in soluzione di Ringer-Bario, l'ampiezza della sistole aumenta immediatamente dalla metà a più del doppio (*azione tonica*), poi le contrazioni vanno progressivamente diminuendo di energia e, 5 minuti dopo circa, il cuore si ferma di nuovo contratto in sistole (*azione tossica*).

c) Con le concentrazioni più piccole (1 /200-1 /500) *delle forti dosi,* questa esperienza può ripetersi diverse volte. Il cuore lavato dopo 2 passaggi in Ringer-Bario, per la seconda volta in Ringer dopo qualche minuto si contrae leggermente e in progresso di tempo pulsa debolmente. Se si riporta per la terza volta in soluzione di Ringer-Bario, subito l'ampiezza della sistole diventa più che doppia, poi lentamente degrada e dopo qualche minuto (7) il cuore è di nuovo contratto in sistole. La stessa, identica esperienza si ripete ancora, facendo un quarto trasporto del cuore in soluzione di Ringer-Bario per la concentrazione 1 /500.

d) Con le dosi deboli, che vanno su per giù da 1 /500 a 1 /10000, l'aumento dell'ampiezza delle sistoli (azione tonica) si osserva ad ogni passaggio dalla soluzione baritica nel Ringer, dal Ringer nella soluzione baritica. Questo fatto, che è costante nelle deboli dosi, comincia a mostrarsi nelle piccole concentrazioni (1 /500) delle dosi forti. Infatti in questa concentrazione al primo lavaggio del cuore in Ringer segue un ripristinarsi immediato delle pulsazioni e un aumento dell'altezza delle sistoli.

In queste concentrazioni poi si nota, sin dal primo passaggio in Ringer-Bario, la fase tonica osservata da Le Fèvre de Arric e da Scaffidi nelle loro esperienze, a questa segue la fase tossica che però non porta a morte il cuore.

Nelle (1/1000–1/0000) più deboli concentrazioni, se noi trasportiamo dalla soluzione di Bario un cuore, o quasi contratto in sistole o

che pulsa debolmente, in soluzione di Ringer, quasi immediatamente l'attività cardiaca si ripristina e l'ampiezza sistolica aumenta dal doppio al quadruplo di quello che era prima, e in progresso di tempo cresce ancora sino a raggiungere un ottimo. Se allora facciamo un secondo trasporto in soluzione di Ringer-Bario le contrazioni aumentano in altezza dalla metà al doppio di quello che avevano in soluzione di Ringer, poi decrescono lentamente, senza però (anche dopo 41') che il cuore si arresti in sistole.

Un nuovo secondo lavaggio in Ringer determina un nuovo aumento dell'ampiezza sistolica che è superato ancora da un terzo passaggio in Ringer-Bario.

Con le diluizioni 1/10000 mi è stato possibile ripetere questa esperienza molte volte ottenendo sempre una esagerazione progressiva e marcata dell'energia sistolica.

Questi i fatti da me ripetutamente osservati.

La loro costanza è tale che mi sento incoraggiato a cercare di spiegarli nella loro essenza, non essendo disdicevole a nessuno proporre una interpretazione che, a solo valore di ipotesi, ci permetta di conoscere un pò più addentro questa importante questione. Il che faccio nel capitolo seguente.

CONSIDERAZIONI.

Come abbiamo visto nell'introduzione di questa nota l'opinione generalmente accettata è che il $BaCl^2$ sia un veleno del miocardio e arresti il cuore in sistole.

Si discute però se l'arresto in sistole è costante, — giacché non sempre si osserva — o se é determinato dal modo di somministrazione del farmaco, o dalla sua concentrazione e da quali modalità è accompagnato.

A me pare che i risultati di queste mie ricerche allarghino il campo della discussione, ci permettano di addentrarci un poco più nel concetto espresso dalla parola — *veleno del miocardio* — e di cercare inoltre di spiegare come il cloruro di Bario agisca sul cuore.

La prima parte delle mie ricerche, (quella che comprende le dosi forti (2/100-1/500), ci prova che un cuore lavato in Ringer, dopo che si era arrestato in sistole per azione della soluzione di Bario, quando ripassa nella soluzione di Bario accresce subito la sua energia contrattile dalla metà al doppio (azione tonica) di quella che aveva in soluzione di Ringer e poi lentamente di nuovo si arresta contratto in sistole (azione tossica). Con le concentrazioni più deboli (1/500) questa esperienza si può ripetere 2-3-4 volte.

Se consideriamo partitamente questi fatti, siamo portati a farci due domande:

L'accresciuta energia sistolica (azione tonica) e l'arresto del cuore

in sistole (azione tossica) dipendono dal quantitativo di farmaco che affluisce? o dal modo di combinazione nel quale questo si trova in un determinato momento nel cuore?

Nel primo passaggio in Bario non si osserva nessuna azione tonica: Il veleno si accumula nel miocardio e al suo progressivo accumulo segue una progressiva diminuizione dell'energia di contrazione, sinché il cuore si arresta contratto in sistole. Questo arresto é però solo temporaneo, giacché basta lavare il cuore in Ringer, perché esso, dopo un tempo più o meno lungo a seconda delle diverse concentrazioni, ripigli a battere.

Evidentemente col lavaggio in Ringer noi asportiamo una parte di veleno e dopo un certo tempo il cuore pulsa di nuovo debolmente. Ripassandolo in soluzione di Ringer-Bario, la nuova quantità di veleno che penetra in esso accresce prima l'energia del cuore, poi, col suo accumularsi, la diminuisce sinché avviene l'arresto in sistole e così di seguito per parecchie volte.

Vi é dunque un *momento*, nell'entrata del $BaCl^2$ nel cuore, al quale corrisponde un aumento dell'energia sistolica (azione tonica), passato questo momento il successivo accumularsi del farmaco agisce come tossico, fa diminuire l'ampiezza sistolica e il cuore si arresta in sistole (azione tossica).

La prova che effettivamente l'aumento dell'ampiezza sistolica corrisponde più a un dato momento dell'entrata del farmaco che al quantitativo di esso ce la forniscono chiaramente le esperienze fatte con le deboli concentrazioni. In esse ad ogni successivo passaggio del cuore, da Ringer in Ringer-Bario e da Ringer-Bario in Ringer, corrisponde un aumento dell'energia contrattile, e questo aumento può crescere progressivamente tanto da diventare maggiore dell'ampiezza sistolica normale; poi degrada lentamente. Noi possiamo interpretare questo fatto ritenendo che l'aumentare o il diminuire del quantitativo di farmaco ci allontana da questo *momento ottimo* (azione tonica) e ci porta lentamente alla diminuzione dell'altezza sistolica o all'arresto del cuore (azione tossica).

Infatti nelle deboli concentrazioni questi fenomeni si svolgono in un tempo molto lungo, mentre nelle forti avvengono in un tempo relativamente breve. In un caso e nell'altro poi il successivo lavaggio in Ringer ci riporta sempre verso questo *momento ottimo* e tale si mantiene per un certo tempo, sinché, col lavaggio continuo, asportando sempre farmaco, ci allontaniamo di nuovo da questo ottimo e il cuore riduce l'ampiezza delle sue sistole, mentre un nuovo passagio in Ringer-Bario ci riporta verso il momento e così via.

Per spiegarni con un esempio: nel cuore di rana avvelenato con $BaCl^2$ avverrebbe rapidamente quello che si osserva, col tempo, in una rana stricnizzata con dosi di veleno non letali. In un primo tempo abbiamo le convulsioni, accumulandosi il veleno nei centri

spinali, la rana cade in paralisi ; in progresso di tempo, eliminandosi il veleno, ricompaiono le convulsioni (tetano di ritorno).

Solo che, in questa esperienza con la rana, noi non possiamo sapere se si tratta di stato o di quantità di veleno, mentre nel caso nostro l'azione tonica e tossica del farmaco corrisponde più a un dato momento di stato della sua entrata nell'organo che al quantitativo assoluto di esso.

Con cio però non voglio dire che la quantità di veleno sia indifferente giacché il fatto che, nell'esplodere dei fenomeni, vi é relazione tra tempo e concentrazione delle soluzioni sta ad indicare che il fattore quantità ha importanza secondaria ma non é nullo.

L'ottimo del momente si raggiunge presto con le forti concentrazioni 2 /100-1 /500 ed é tolto lentamente col lavaggio. Con le deboli concentrazioni 1 /500-1 /10000 invece la soglia di questo momento é brevissima e rapidamente si raggiunge e si oltrepassa sia col lavaggio sia col passaggio nelle soluzioni velenose.

Oltrepassato il momento ottimo (azione tonica) il farmaco determina nuove modificazioni che portano il cuore a fermarsi contratto in sistole (azione tossica).

Queste modificazioni dipendono dal quantitativo assoluto del farmaco? o da nuovi momenti di stato che si formano nelle combinazioni che avvengono tra farmaco e sostanze del miocardio ?

L'affluire progressivo del farmaco arresta rapidamente il miocardio nelle forti dosi, invece nelle piccole concentrazioni si ha solo diminuizione dell'energia di contrazione che si abbassa sempre più lentamente, senza per altro arrestare il cuore in sistole. Nel primo caso i momenti di stato che determinano una minore energia espansiva del miocardio si succedono rapidamente e l'altezza della sistole cade subito sulla ascissa; nel secondo caso invece si svolgono lentamente e il miocardio, raggiunto uno di questi momenti di stato, ai quali corrisponde una determinata altezza sistolica, lo mantiene per un certo tempo, sinché non sopravviene un nuovo momento di stato, al quale corrisponde un nuova diminuizione nell'altezza della sistole e così di seguito.

Ad ogni ampiezza sistolica pare quindi corrisponda un momento del nuovo stato molecolare che si determina fra farmaco e corpi del miocardio, e questo momento pare dipenda meglio dall'aggregazione molecolare creatasi che dal quantitativo assoluto di farmaco affluito nell'organo.

Dove si esercita l'azione del $BaCl^2$? Sulle miofibrille? o sull'innervatura intrinseca del cuore? Come ho fatto osservare in altre mie ricerche (5) troppo intimi sono i rapporti che esistono tra fibre muscolari e fibre nervose perché io possa considerarle separatamente e pronunciarmi in proposito. Per tanto, siccome i fatti insorgono per le deboli concentrazioni in pochissimo tempo, non sarei alieno

dal credere che l'azione, oltre che sulle miofibrille, si eserciti anche sull'innervatura intrinsica. Comunque però siano i fatti, le considerazioni svolte e quelle che svolgo non subiscono perciò nessuna modificazione.

Ho parlato di *momento* di entrata del $BaCl^2$; resta adesso a vedersi come dobbiamo intendere la parola *momento*.

E' da supporsi logicamente che il $BaCl^2$, penetrato nel cuore, diventi parte di questo contraendo delle combinazioni con le sostanze che costituiscono il miocardio (4). Queste combinazioni molecolari sono labili, cioé con l'aumentare e col diminuire del veleno facilmente si modificano, presentano solo un *momento ottimo* (stato) nel quale l'energia contrattile del cuore aumenta (azione tonica). Questo momento ottimo di reazione viene rotto, e si determinano altri momenti, sia dall'eccesso di veleno e allora il cuore si arresta in sistole (azione tossica), sia dal lavaggio, ed allora i cuori dopo un certo tempo che sono in soluzione di Ringer diminuiscono l'ampiezza dei battiti.

In che cosa consistono effettivamente questi momenti, e il tonico e il tossico, io non saprei attualmente precisare ; suppongo però che debba necessariamente trattarsi di fenomeni fisico-chimici o di addizione o di sottrazione o di precipitazione che sinora sfuggono alla nostra indagine diretta.

Arrivati a questo punto possiamo anche spiegarci, in attesa che ulteriori indagini ci illuminino meglio in proposito, quale é la natura delle modificazioni che l'entrata del $BaCl^2$ determina negli elementi del cuore ; a che cosa cioé corrispondano i momenti della reazione che a noi si rivelano o con aumento dell'energia contrattile o con l'arresto in sistole.

E' presumibile, dato che il cuore é un'organo eminentemente elastico, che il farmaco aumenti la forza elastica delle miofibrille sino a raggiungere un determinato limite (momento ottimo, aumento energiai sistolica, azione tonica). L'aumento poi progressivo della forza elastica porta alla consistenza e alla durezza, la quale, aumentando sempre più, finisce con l'impedire i movimenti attivi del cuore (arresto sistolico, azione tossica).

Per intenderci con un esempio possiamo supporre che il Bario eserciti sulle fibre del miocardio un'azione simile a quella che il C spiega entrando in combinazione col ferro : a seconda del quantitativo di esso abbiamo la elasticità o la rigidità e a ciascuno di questi gradi di combinazione corrisponde uno stato di aggregazione diverso, al quale corrisponde un diverso comportamento fisico. Un fatto mi conforta in questa mia opinione, ed é che un cuore, contratto più o meno in sistole per azione delle forti soluzioni di Bario, col lavaggio prima si rilascia e si distende lentamente come si svolgesse, e poi comincia a battere lentamente sotto forma di semplici contratture ; invece colle deboli concentrazioni la soglia di questo ottimo di elasti-

città é brevissimo e noi vediamo rapidamente aumentare o diminuire l'energia sistolica ad ogni passaggio da Ringer in Ringer-Bario e da Ringer-Bario in Ringer.

In tal modo io credo possiamo prospettarci, sotto forma di ipotesi, il meccanismo e la natura dell'azione del $BaCl^2$ sul cuore, in attesa che ulteriori ricerche sul gruppo dei cardiocinetici ci illuminino meglio su questo importante e delicato argomento.

CONCLUSIONI.

1° *Le fortissime dosi* (5%), di $BaCl^2$ arrestano definitivamente il cuore di rana, staccato e sospeso col mio metodo, in sistole.

2° *Le forti dosi* (2/100-1/500) arrestano il cuore in sistole. Per lavaggio in Ringer ripulsa e ad ogni successivo passaggio in soluzione di Ringer-Bario corrisponde un aumento dell'energia sistolica di contrazione (azione tonica) che dura un certo tempo e poi degrada sino a che il cuore si arresta in sistole (azione tossica).

3° *Con le deboli dosi* (1/500-1/10000) ad ogni successivo passaggio, dalla soluzione di Ringer in quella di Ringer-Bario e viceversa, notiamo un aumento dell'energia contrattile (azione tonica) che degrada poi lentamente, senza arrivare mai all'arresto sistolico del cuore.

4° In base alle considerazioni che ho svolto nel corpo della nota, possiamo ritenere, sotto forma di ipotesi, che l'azione del cloruro di Bario sul cuore non dipenda tanto dal quantitativo assoluto di farmaco quanto dai diversi successivi aggruppamenti molecolari che si stabiliscono tra farmaco e sostanze del miocardio (momenti di stato).

BIBLIOGRAFIA.

(La bibliografia è limitata agli AA. citati ed ai lavori che hanno stretta attinenza con questo ricerche).

1. A. DELCORDE, *Bull. Soc. R. Sc. Médic. et Nat.* Bruxelles, avril 1913.

G. PICCININI, *Arch. di Farm. e Scienze aff.* IX, 1910.

G. PICCININI, *Arch. di Farm. e Scienze aff.* XVIII, 1914.

2. E. ZUNZ, *Ann. Soc. R. Sc. Médic. et Nat.* Bruxelles, 1909.

3. LE FEVRE DE ARRIC, *Arch. de Pharmac. et de Thérap.* XXV, 1921, pag. 283.

4. SCAFFIDI, *Biochemische Zeitschrift.* IX, 1908, pag. 489.

5. L. TOCCO, *Arch. de Pharmac. et de Thérap.* XXVII, 1922, pag. 415.

FROM THE PHYSIOLOGICAL LABORATORY, LUCKNOW.

Experiments with Thyroid Substance

BY

W. BURRIDGE.

The observation of OLIVER and SCHAFER (16) that watery extracts of thyroid gland were depressor has been repeatedly but not always confirmed; FARINI and VIDONI (13), for example, noted vaso constriction. Further the identification of the depressor substance in extracts, as choline by v. FÜRTH and SCHWARZ (14), would indicate depression not to be due to a specific thyroid secretion. The immediate effects of thyroid extract on the heart are also uncertain though clinically the rise of pulse rate, forms a reliable indicator of the effects of thyroid administration and tachycardia is an invariable result of experimental hyper-thyroidism. It is with the latter that the present paper primarily deals. The action on the frog's heart has been examined of the dried standardized glands prepared by Messrs Burroughs and Wellcome and known clinically to supply a deficient thyroid secretion.

In carrying out this examination, we can take up a position differing from that of our predecessors in that it has been previously shown that excitability is mediated by two mechanisms, so far independent, that a depression mediated through the one can exist side by side with and not interfere with an augmentation mediated through the other (8). From that base we can start out prepared to find that a particular substance is both augmentor and depressor, and expect also to find further the conditions under which it is predominantly augmentor or predominantly depressor.

This expectation was realised and each tracing of the first figure

shows that watery extracts of thyroid gland exert two independent actions on the frog's heart. (See fig. 1).

At T. the extract of thyroid in RINGER began to replace simple RINGER. There followed a rapidly produced depression which wa' succeeded by a slow augmentation.

At R. RINGER began to replace the thyroid solution and there followed a rapidly produced augmentation which was succeeded by a slow depression ending with restoration to the status quo ante.

But the augmentation after R equals in degree and duration the

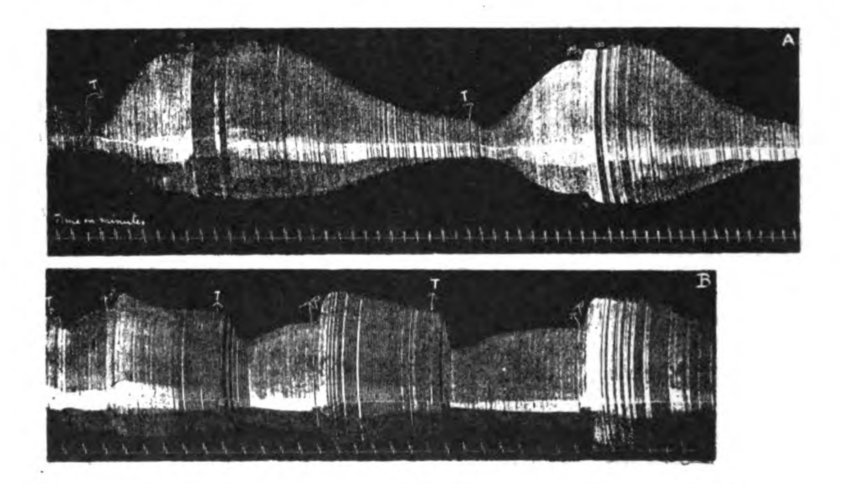


Figure 1.

The solutions contained 0.6 % NaCl, 0.03 % KCl, 0.01 % $NaHCO_3$.
Solution for A contained 0.005 % $CaCl_2$
» B » 0.01 % $CaCl_2$

Thyroid solution for A was extracted from 0.6 gm. dry thyroid by 100 cc. Ringer.

Thyroid solution for B was extracted from 1.2 gm. dry thyroid by 100 cc. Ringer.

Times in minutes in all figures.

Selection made from irregularly beating hearts to show independence of effects and changes of rhythm.

depression after T, and a similar relation holds between the two slow changes. There is, however, no form of equality between a rapidly and a slowly produced change. Consequently I deduce, as with former examples (8), (9), that the rapidly produced augmentation reversed the previous rapidly produced depression and that the slow depression was the reversal of the previous slow augmentation.

Watery extracts of dried thyroid gland, thus exert a depressing and an augmenting action each going its own independent way. Boiling the extract did not affect the results.

The tracings show also that Ca antagonizes this thyroid depres-

sion and that with successive trials, the depressing action tends to become greater and the augmentation less on each new occasion of perfusion, a common result (cf. ZUNZ.) (18).

Strong solutions of the extract produced diastolic arrest, but owing to Ca antagonising the depression « Strong » was a varying strength. When next such a « Strong » solution was washed out of the heart by RINGER alone there followed a rebound to augmented activity. (See fig. 2.).

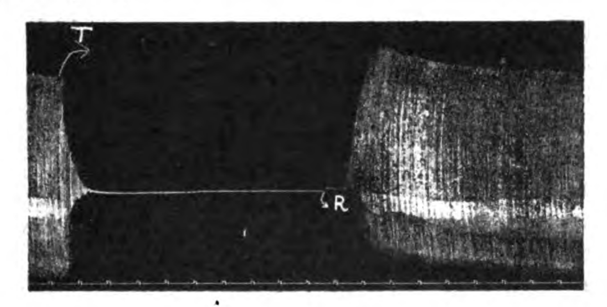


Figure 2.

The Ringer contained 0.6 % NaCl, 3.03 % KCl and was saturated with $CaHPO_4$. Thyroid extract.3 %.

The rebound seen in fig. 2, was evolved from the slow subsiding augmentation seen in fig. 1 but on the evidence actually presented could also be considered as due to the heart having become recuperated from the rest obtained through the diastolic stoppage. Accordingly the next tracing is presented to show that the rebound is due to some active process evoked by the thyroid extract additional to that involved in producing the diastolic arrest. (See fig. 3).

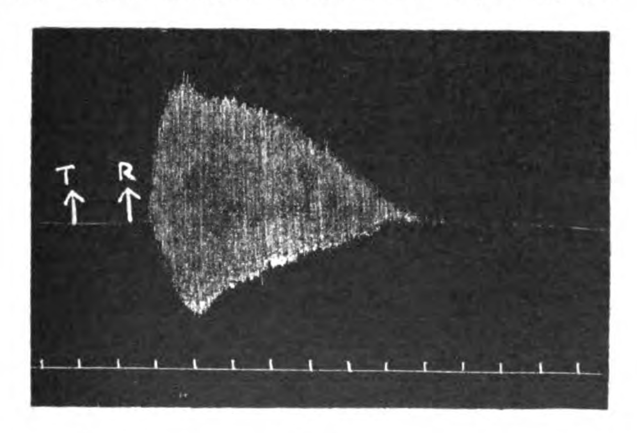


Figure 3.

Ringer and thyroid extract as in fig. 2.

Here the recorded experiments were begun on a heart rendered quiescent by previous perfusion to exhaustion. During the time of exposure to thyroid extract the quiescence remained but next, on washing out the extract with the original RINGER, the heart became temporarily vigorously active.

Now hearts perfused to exhaustion do not recuperate from the resulting rest. Most experimenters, indeed, would place such a preparation aside as dead, for left to itself it would never beat again. The thyroid extract, thus, emerges as a strong recuperator. Its mode of action is indicated by previous experiments where it was shown that the heart exhausted by perfusion was one in which the excitation process had become inadequate through lack of adjustment between Ca and the state of colloidal aggregation (10). Since Ca concentration was unchanged throughout, the thyroid recuperation must have resulted from changes in colloidal aggregation.

It is not to be expected, however, that any such recuperative action should be shown on injection into the intact animal. The extract exerts a rapidly removable depression and a slow subsiding augmentation but to remove the depression rapidly, the extract must be correspondingly rapidly removed. Such is easily accomplished in the perfused heart by simply substituting the one perfusing fluid by another whereas removal from the intact animal would depend on excretion or destruction. Rapid excretion or destruction in their turn imply equally brief opportunity of bodily action. Further, reference to the tracing shows that the rebound was at its maximum immediately after removal of the thyroid extract and that it thereafter subsided to zero in some ten minutes

Granting, then, to the intact animal an excretory or destructive period for thyroid extract greater than fifteen minutes we cannot expect anything of augmentation because by such a spreadover of removal not only would the rate of production of rebound be correspondingly diminished but that produced in the early stages would have subsided before that of the late stages appeared.

These results have a bearing on the depressor and augmentor action of thyroid extracts. The experimenter expecting that a given substance should exert one action on a given bodily function, can further reasonably anticipate that the stronger the solution employed, the more certain a definite result. When, however, the substance exerts two independent and opposite actions as do extracts of thyroid and other glands with which I have worked, and where the two opposite actions have their own rates of increase with increase of concentration of their producer, a depressor action may only mean that the solution is of such strength as gives a predominance of depression over augmentation. Consequently the differences of opinion as to the action of thyroid extract may be due to differences of concentration ;

those who used relatively weak solutions were possibly those who obtained a predominance of augmentation, those who used it strong obtained a predominance of depression.

On such grounds also an increasing tachycardia is not to be anticipated from the use of increasing doses of thyroid but as such actually occurs in practice the action of thyroid extract cannot wholly run along the lines so far indicated. The flaw in the argument lies in the assumption that the depression and the augmentation shown in the tracings are both due to the same substance. Such is possible as shown by divers earlier instances (8) (9), but if more than one substance were at work producing the changes already shown, while the results over relatively short intervals of time should follow the lines already indicated, differences in the rate of destruction or elimination of the possible different substances should culminate along quite different lines.

The use of atropine showed that there were at least two depressor substances in the extract. The action of one is removed by atropine, that of the other is not. The portion of thyroid depression removed by atropine was variable. It never exceeded 30 % of the whole and might be negligeable. Indeed the obtaining of the clear cut results shown in the first tracing seemed bound up with presence of a negligeable quantity of the depressor removed by atropine since its depression was not as rapidly removed as it was produced unless atropine were used to remove it, cf. pilocarpine (11).

The action of this depressor removed by atropine, corresponded with the action of choline as described by WALLER and SOWTON (17) whose results I can fully confirm and accordingly I would identify this depressor with choline. In turn this means also a partial confirmation of the work of SCHWARZ and v. FÜRTH (14) with the difference that where as they identify one thyroid depressor, choline, these experiments show that thyroid extract contains at least two depressors and give choline the minor part.

Having thus found at least two depressors, attention was next directed to augmentation. It has already been noted that the culmination of the action of a single substance producing depression and augmentation such as is shown in the first figure could be expected to be a predominance of depression, as with alcohol (9) or cocaine (7), where as increasing doses of this substances actually produce increasing tachycardia. Consequently it would appear that the body preserves and retains the augmenting principle longer than it does the depressors.

Accordingly it was next attempted to find some solvent which should extract from this dried thyroid substance an augmenting substance and leave the depressors behind or vice versa. Only the method of trial and error was available for this and it provided such

an abundance of negative results, as would have led to an abandonment of the quest, did it not appear certain that tachycardia could not be the culmination of the action of a substance exerting the effects shown in fig. 1. Eventually positive results were obtained when alcohol chloroform and ether were allowed to act a sufficient length of time, 48 hours.

THE THYROID AUGMENTOR.

The thyroid augmentor was yielded to boiling RINGER'S solution by the residue of dried thyroid gland insoluble in alcohol. The depressors were soluble in alcohol but were not completly extracted until the lapse of at least 48 hours so that watery extracts of the residue made before that lapse of time resembled in their action those made from the original dried substance.

A solution of the thyroid augmentator in RINGER made in the manner mentioned could initiate beats in quiescent hearts and augment and accelerate those already beating well. Tracings illustrating its action are given in figure 4.

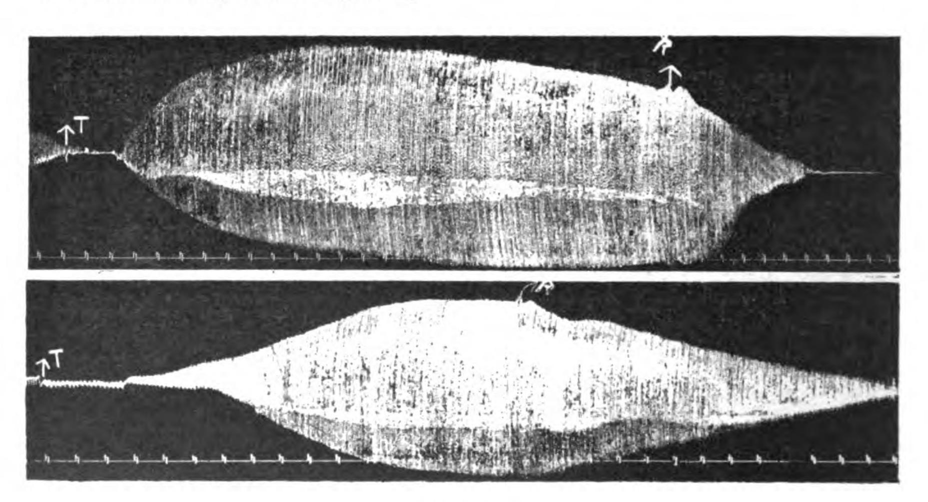


Figure 4.

Ringer: 0.6 % NaCl, 0.03 % KCl, 0.01 % $NaHCO_3$, 0.0025 % $CaCl_2$.

At ↑ T this solution wich the watery extract of the alcohol insoluble portion of 0.6 gm dry thyroid in 100 cc.

At ↑ R Ringer alone re-perfused.

Each experiment was begun at a time when the heart was beating feebly as a result of previous perfusion with the RINGER the waves indicating failure of auricular contraction (4). At T the same RINGER

containing thyroid augmentor began to be perfused and after a latent period due chiefly to slow perfusion through the dilated heart the beats slowly increased in size taking about fifteen minutes to reach their maximum. At R perfusion of Ringer alone was resumed and then the beats slowly failed again.

As shown in a previous paper (10) feebly beating hearts such as those used for the experiments above also beat well when the calcium of the perfusing solutions was increased. The thyroid augmentor, however, cannot be calcium because

(1) The Ca augmentation is rapid in onset and subsidence (8), (10).

(2) Thyroid augmentator can produce marked acceleration (See fig. 5).

(3) Thyroid augmentator does not produce visible improvement in absence of Ca but does something to the heart favouring the action of following Ca. In this respect its favouring action is of the same order as that of digitalis (5), adrenalin (6), sodium, (8) uranium (12) etc. (Cf. also fig. 3 above.)

(4) The thyroid augmentor is antagonised by calcium. Such antagonism again is shown with digitalis (5), adrenalin (6) etc.

The mode of development and subsidence of the action of this thyroid augmentor together with its resemblances to the actions of the other substances mentioned above, show that the effects are produced through changes of colloidal aggregation (8). The thyroid augmentor is a substance producing in the colloids of the cardiac excitable structure a finer state of subdivision than normal and ipso facto confers on the heart an increased capacity for function (10).

Since the hearts used for the records of fig. 4 above had previously failed a recuperative action is there demonstrated. A preservative action on cardiac activity is shown in the tracings. (See fig. 5.)

At T in the left tracing the extract in RINGER of the ether insoluble residue of dry thyroid began to be perfused causing augmentation and acceleration. At R. in right tracing, RINGER was reperfused and the heart slowly failed again. Reperfusion of the thyroid RINGER gave a fresh augmentation which did not however reach its maximum because the thyroid solution was exhausted and a 48 hour preparatory period prevented any replacement. The tracings show also that a small residue of depressor remained and that its action was uniform throughout the experiment.

The time elapsing between the records shown in the tracings was approximately 1 1/2 hours and though a decrease of contraction height took place over that time such decrease was much less than that which occurs on the RINGER alone for the perfusion of this latter leaves a heart exhausted after one hour (10). The tracings, thus, show marked ability of the thyroid augmentor to preserve functional capacity. The cardiac failure which this thyroid augmentor reverses or

staves off has previously been shown to be a failure of the excitation process (10). But as the body through the earlier failure of the channels of excitation preserves muscular and other structures from undue breakdown this augmentor through its recuperative and preservative

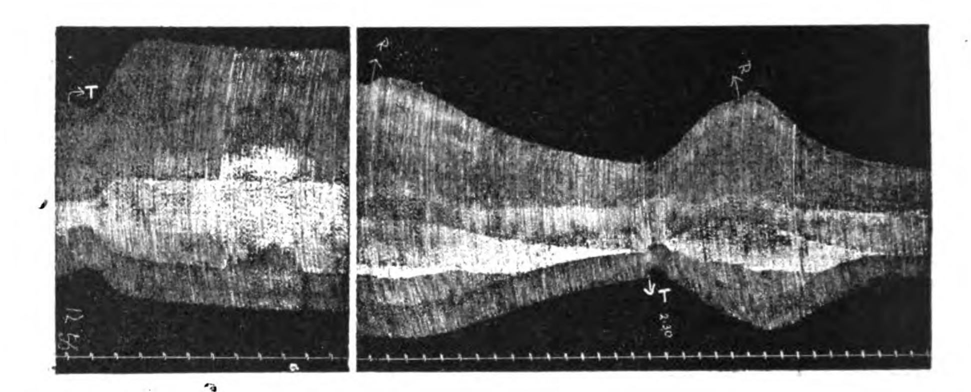


Figure 5.

Ringer: 0.6 % NaCl, 0,03 % KCl, 0.01 % NaH CO_3, 0.005 % $CaCl_2$.
At ↑ T solution above modified by the addition of the watery extract of the ether-insoluble portion of 0.6 gm. dry thyroid in 100 cc.
At ↓ R Ringer alone re-perfused.
12.55 and 2.30 give times of day.

actions on the exciting mechanism should lead to greater functional activity and so also to increased metabolism.

Though obtained by entirely different methods, the thyroid augmentor experimented with above seems probably the thyroxin of KENDAL (15). At the same time it is possibly not the only augmentor present in the dried gland. Though alcohol extracts all the depressing substances, it extracts also something which augments.

The water-soluble portion of the alcoholic extract was obtained by adding the alcohol to a measured volume of RINGER evaporating the whole under reduced pressure on a water bath and then reconstituting the RINGER by adding the necessary volume of distilled water.

Such a solution exerted the two actions shown in the first figure and over a short first experiment augmentation predominated over depression. But on repetition of the experiment or continued action of the solution, depression gained ground so as ultimately to wipe out any augmentation and leave the heart inexcitable. Such effects can be seen in the next tracing which shows both an aborted augmentation and a permanently depressed heart. (See fig. 6.)

As judged by the potassium method (3) these solutions exerted a decalcifying action on the heart and it may be that they contained a further thyroid hormone of the type found by BELL(1). At the same time the augmenting principle extracted by alcohol seems to be different from that earlier obtained « pure », for 96 hours extraction still left behind a strong augmenting principle.

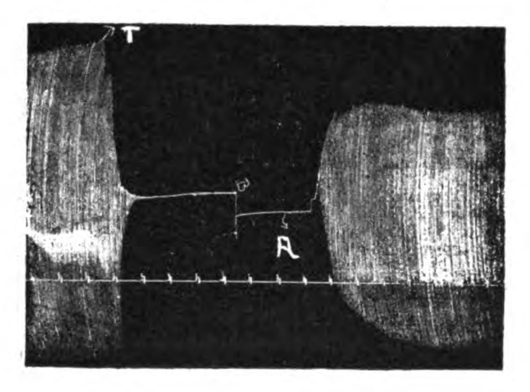


Figure 6.

Ringer: 0.6 % NaCl, 0.03 % KCl, 0.01 % $NaHCO_3$, 0.005 % $CaCl_2$.
At ↑ T this solution with watery extract of alcohol soluble portion of 1.8 gm. dry thyroid in 100 cc.
At , R unmodified Ringer re-perfused.
B = movement of apparatus.

REMARKS.

The watery extract of dried thyroid and presumably also of fresh thyroid contains as the experiments show a mixture of substances exerting cardiac physiological action. Also such a mixture as was obtained for reasons given earlier, could not be expected to produce increasing tachycardia with increasing dose but on the contrary increasing depression. Consequently it was deduced that on ingestion the body must deal differently with the different constituents of the mixture so as to leave it with an augmenting substance only and that somehow or other outside the body it should be possible to obtain from the mixture a solution activating the cardiac mechanism. Such a solution having been obtained, I conclude that it contained that active principle of the thyroid gland which produces tachy-cardia.

Granting this, the experiments shown in Fig. 4 and 5 have possibly a practical application. In fig. 4 thyroid augmentor is responsible for practically for the whole of the cardiac output and in fig. 5 for about one half. Since then a thumping rapid heart is a prominent symptom

of exophthalmic goitre, while there is no doubt that thyroid is responsible for the excessive activity, there arises from my experiments the possibility that thyroid may then also be responsible for even an adequate beat.

In this connection attention is drawn to earlier work in which it was shown that the blood-containing heart behaved fundamentally different from that shown when it was subsequently perfused with Ringer's solution (2) (6) and further that these differences of behaviour depended on the colloids of the blood-containing heart being loaded with potassium much of which was lost on transfer to Ringer. But by the time Ringer held sufficient potassium to enable the heart to commence behaving as it does on blood the solution had become unfit to maintain activity. A trace of adrenalin removed its defects (6).

The conception arising from these experiments is that blood regarded as a mixture of inorganic salts is an unbalanced solution in that it contains an excess of potassium. Its defects are normally concealed by adrenalin, but in absence or with inadequate supply of the latter the defects of such a perfusing solution with excess of potassium are revealed in the neuro-muscular and cardio-vascular symptoms of ADDISON'S disease (6).

Later it was found that an unbalanced solution, such as blood had been deduced to be, acquired through the lack of balance preservative and restorative properties that were nonexistent in a balanced solution (10), increased radioactivity being a quite possible factor (12) in this, so that pari-passu with development of ductless glands the animal world had been able also to evolve a preservative and restorative perfusing fluid.

Reverting now to the question of thyroid augmentor being responsible even for an adequate beat, we note first that blood of itself is inefficient and normally requires adrenalin. There is next no qualitative difference between the cardiac actions of adrenalin and this thyroid augmentor. The differences are quantitative. Consequently it would seem possible that one of the bodily mechanisms of adjustment to excess of this thyroid augmentor must be a restriction of the supply of adrenalin leaving to thyroid augmentor the vicarious function of rendering blood capable of maintaining the circulation. From our results such substitution should enable the organism to carry on qualitatively the same as before but quantitatively different. But it means also that to the victim of hyperthyroidism thyroid augmentor is temporarily necessary for even an adequate circulation. When then the surgeon suddenly cuts off the victim's supply of thyroid augmentor the circulation should fall to an inefficient level unless something else can be brought in to supply the deficiency. The body, should, of course, revert to adrenalin but if hyperthyroidism implies cessation

of the normal supply of this, its continuance over some time must mean functional atrophy of adrenalin production for we have no reason to believe a ductless gland maintains its functional capacity intact during disuse any more than a neuro-muscular mechanism or digestive gland.

It would appear on these grounds that extirpation of an overactive thyroid is an inherently dangerous operation on account of a tendency for the circulation to revert to an inefficient level. Opposed to this, however, would be the tendency for the normal supporter of the circulation to resume function and the survivors would be those for whom re-education of that normal function occurred in adequate time. On these grounds also we get quite definite indications for post-operative treatment viz ; the exhibition of thyroid in gradually decreasing amounts so as to give its victim adequate time to re-educate the functions vicariously performed by thyroid. The victim of hyperthyroidism, I suggest, is in the same category as the drug maniac to whom his drug has become essential for the adequate working of the bodily mechanism and accordingly to require treatment along similar lines when the stimulant is to be withdrawn.

SUMMARY.

1. Watery extracts of dried thyroid are found to exert two independent actions on the frog's heart siz :

a) a depression ;

b) an augmentation.

2. Both actions are affected by calcium. They also have their own rates of increase with increase of concentration that of depression being the more rapid.

3. The alteration of equilibrium produced by thyroid extract is thus made up of opposing changes each modified by the composition of the perfusing solution. In the new position of equilibrium attained by a heart under the influence of thyroid extract, however, there is a general tendency for augmentation to predominate when the extract is weak and for depression to predominate when the extract is « strong».

4. There are at least two depressors in the extract one of which may be choline but the part played by this latter is a minor one.

5. There are probably at least two augmentors.

6. A method is described of obtaining from dried thyroid substance a solution exerting marked augmenting and accelerating actions on the heart. This solution is therefore considered to be one containing the thyroid augmenting hormone.

7. This hormone may become responsible for practically the whole of the cardiac output from which is deduced a cause for part, at least, of the post-operative mortality of exophthalmic goitre.

REFERENCES.

1. BELL. — *The Sex Complex*. London, 1921.
2. BURRIDGE. — *Journal of Physiology*, LI, 45, 1917.
3. BURRIDGE. — *Ibid.*, LIII, 269, 1919.
4. BURRIDGE. — *Ibid.*, LIII, *Proc. Physiol. Soc.*, LIX, 1919
5. BURRIDGE. — *Quart. Journ. of Medecine* ,IX, 271, 1915-16.
6. BURRIDGE. — *Ibid.*, X, 163, 1917.
7. BURRIDGE. — *These Archives*, XXVI, 115, 1921.
8. BURRIDGE. — *Ibid.*, XXVII, 243, 1922.
9. BURRIDGE. — *Ibid.*, XXVII, 239, 1922.
10. BURRIDGE. — *Ibid.*, XXVIII, 37, 1923.
11. BURRIDGE. — *Ibid.* XXVIII, 23, 1923.
12. BURRIDGE. — *Ibid.* XXVIII, 31, 1923.
13. FARINI and VIDONI. — *Arch. Ital. de Biol.*, 52, 1919.
14. V. FÜRTH und SCHWARZ. — *Pflüger's Archiv.*, CXXIX, 366, 1908.
15. KENDAL. — *Journ. of Biol. Chem.*, XXXIX, 125, 1919.
16. OLIVER and SCHAFER. — *Journal of Physiology*, XVIII, 277, 1905.
17. WALLER and SOWTON. — *Proc. Roy. Soc.*, LXXIIB, 320, 1903.
18. ZUNZ. — *Trav. du Lab. de Thérap.*, Bruxelles, 1908-1909.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E TERAPIA DELLA R. UNIVERSITA' DI NAPOLI.

DIRETTO DAL PROF. PIO MARFORI.

Influenza di alcune sostanze simpaticotrope sul glicogeno epatico

PER IL

DOTT. VITTORIO SUSANNA.

Assistente.

In condizioni fisiologiche il glicogeno epatico aumenta con l'alimentazione, specialmente se costituita da idrati di carbonio, meno se da sostanze proteiche e meno ancora se da grassi, come ha dimostrato PAULESCO (1) col metodo di colorazione con la gomma iodata, che conferisce al tessuto epatico di cane una colorazione rosso mogano più o meno intensa, a seconda del contenuto maggiore o minore in glicogeno. Questo varia nei diversi animali, come si può rilevare dalle cifre ottenute dai molti autori. Secondo MAC DONNEL (2) il quantitativo per cento di glicogeno è nel cane gr. 1,3-4,5, nel gatto 1,5, nel coniglio 3,7, nella cavia 1,4, nel topo e nel colombo 2,5. Nell'oca, secondo VOIT (3), 10,51 e nel pollo 11,92, media delle cifre ottenute da ISCHERINOFF, PRAUSNIZ, KÜLZ, HERZENHAHN e OTTO (4). Cifre superiori a quelle riportate da MAC DONNEL pel cane sono state ottenute da altri autori. SCHONDORFF (5) trovò il 17,1-18,69 %. GATIN-GRUZEWSKA (6), ricercando il glicogeno col metodo di PFLÜGER e calcolandolo in forma di glucosio, trovò il 16,083-18, 259 % nei cani, tenuti digiuni per dieci giorni e poi alimentati per cinque giorni con 100 gr. di carne di cavallo, 100 gr. di riso e 100 gr. di saccarosio. PAVY (7) nei cani alimentati per lungo tempo con pane e patate trovò il 17 % e nei conigli nutriti con amidacei e barbabietole il 27 %. Nell'uomo si calcola come massimo il 12-18 % e come minimo il 4-2,79 %, come nel fegato di due giustiziati, secondo GARNIER (8).

In tesi generale si può dire che le sostanze capaci di produrre aumento di glicogene nel fegato agiscono trasformandosi in glicogene o eccitando la funzione glicogeno-formatrice della cellula epatica o bruciando nell'organismo in luogo del glicogeno che viene risparmiato o inibendo la trasformazione del glicogene in zucchero. Oltre che alimentare l'origine del glicogeno è pure extraalimentare : dall'e-

moglobina, la quale si decomporrebbe nel fegato in glicogeno, urea e pigmenti biliari (MEISSNER (9)). Nel digiuno invece il glicogeno diminuisce nel fegato ; così pure in alcune condizioni sperimentali : la puntura del IV ventricolo alla BERNARD, la legatura dell'arteria celiaca e delle due meseraiche (SLOSSE (10)), la legatura del coledoco, il taglio dei vaghi e in parecchie circostanze morbose : la febbre, il dolore, l'avvelenamento da ossido di carbonio, i traumatismi addominali ed epatici, i raffreddamenti e le emorragie. La scomparsa completa del glicogeno dal fegato si ha dopo parecchie ore dalla morte (ADUCCO (11)), poiché la trasformazione del glicogeno in glucosio subito dopo la morte avviene molto rapidamente per la vitalità delle cellule epatiche non ancora spenta, mentre a mano a mano che questa viene meno la trasformazione avviene più lentamente e non più per l'attività della cellula epatica, ma soltanto per opera di una diastasi, comune a tutti i tessuti. Alcune sostanze infatti, come il fluoruro di sodio, l'acqua cloroformizzata ed il violetto di metile arrestano l'attivita protoplasmatica delle cellule epatiche senza impedire l'azione dei fermenti solubili. Esse rallentano la trasformazione del glicogeno in glucosio nel primo periodo post-mortem e non hanno alcuna azione nel secondo periodo (NOËL PATON (12)).

La distribuzione del glicogeno nel fegato è ancora oggetto di discussione. GILBERT e JOMIER (13), col metodo di colorazione con la gomma iodata, hanno osservato che ordinariamente il glicogeno è ripartito uniformemente nei diversi lobuli epatici, mentre talvolta si localizza abbondantemente sotto il peritoneo periepatico, dove permane anche quando è già scomparso dal resto del fegato, e che si raccoglie più nel tessuto delle vene epatiche che in quello delle arterie, della vena porta e dei canalicoli biliari. PAULESCO (14) invece osservò nei cani tenuti digiuni e poi ammazzati che il glicogeno, ricercato col metodo di PFLÜGER, era distribuito uniformemente nel tessuto epatico, mentre nei cani alimentati era in maggiore quantità nel fegato sinistro. Altrettanto osservò SÉRÉGÉ (15), il quale trovò più glicogeno nel lobo sinistro che nel destro, probabilmente per una ragione circolatoria, avendo egli dimostrato che il lobo sinistro ha una rete vascolare meno attiva di quella del lobo destro e perciò si scaricherebbe meno rapidamente del glicogeno accumulatovisi. Questo risultato ottenne pure GARNIER (16), il quale, col metodo di PFLÜGER, potè dosare nel fegato d'un giustiziato gr. 1,85 nel lobo destro e gr. 2 nel lobo sinistro. BARFURTH (17), in preparati istologici colorati con la gomma iodata, potè osservare che nel fegato di conigli il glicogeno si deposita a guisa di corona intorno alla vena centrale del lobulo, mentre nel fegato di uomo e di cane intorno alla vena porta, come aveva pure dimostrato BRAULT (18) nel fegato di un cirrotico.

La funzione glicogenica è regolata dal sistema nervoso, che

trasmette al fegato gli stimoli funzionali e ne regola la circolazione. Secondo CL. BERNARD (19) i nervi attivano la circolazione del sangue nel fegato, dilatando i vasi, e per l'afflusso maggiore di sangue aumenta l'azione del fermento sul glicogeno e la trasformazione del glucosio in glicogeno. Il vago avrebbe azione inibitrice sulla trasformazione del glicogeno epatico, come ammisero per prima MORAT e DUFOURT (20) e come dimostrarono dopo BORUTTAU (21), VASOIN e ROSSI. Secondo MORAT e DUFOURT, il vago conterrebbe fibre stimolatrici e fibre inibitrici della funzione glicogenica, così come conteiene fibre acceleratrici del cuore accanto a fibre moderatrici più potenti. VASOIN (22) dimostrò che il consumo del glicogeno epatico nelle rane ibernanti, provocato dal risveglio o da un innalzamento della temperatura, si esagera se esse siano state preventivamente vagotomizzate. ROSSI (23) ottenne analoghi risultati, che confermarono l'azione glico-inibitrice del vago, tagliando ai conigli i vaghi al di sotto dell'origine dei laringei inferiori. DUBOIS (24), col taglio dei vaghi nell'addome, vide prodursi iperglicemia mentre dopo il taglio del simpatico addominale e dello splancnico vide diminuire lo zucchero del sangue. RONCATO (25) studiò il modo col quale si esplica l'azione inibitrice del sistema autonomo craniano sulla mobilizzazione degli idrati di carbonio epatici. Eccitando il vago, che, come tutti i nervi, continua ad essere eccitabile per qualche tempo dopo la morte, egli vide che la trasformazione del glicogeno in glucosio diminuisce nel primo periodo post-mortem, e da ciò concluse che la trasformazione del glicogeno in glucosio deve essere regolata indipendentemente dal fattore nervoso e dal fattore umorale, potendosi così reciprocamente supplire.

Azione antagonista avrebbero invece i nervi glicosecretori, d'origine probabilmente simpatica, dimostrati dai fratelli CAVAZZANI (26) nel plesso celiaco, la cui eccitazione provoca direttamente la trasformazione del glicogeno in glucosio anche in animali appena uccisi, nei quali la circolazione è sospasa ed è esclusa la influenza delle capsule surrenali, e indirettamente, provocando una scarica del sistema cromaffine.

Oltre all'alimentazione o al digiuno, al lavoro muscolare o al riposo, all'eccitazione elettrica del vago o dello splancnico hanno influenza sulla funzione glicogenica alcune sostanze farmacologiche. Tra esse particolarmente l'adrenalina, la quale eserciterebbe un'azione amilolitica sul glicogeno epatico, probabilmente a mezzo del pancreas (HERTER (27)). Iniettata infatti nel sangue negli animali da esperimento, essa determina iperglicemia (BLUM (28)), la quale si accentua dopo asportazione del pancreas. ADDARI (29) con ricerche istologiche ha dimostrato che l'adrenalina in alcuni animali da esperimento fa diminuire o scomparire dalle cellule epatiche il glicogeno, che aumenta invece nelle cellule dei tuboli del BELLINI. Secondo

DOYON, MOREL e KAREFF (30) l'iniezione di 1 cg. di adrenalina in una vena mesenterica d'un cane può far scomparire il glicogeno dal fegato, come essi dimostrarono nei campioni di fegato prelevati prima e dopo l'iniezione di 1-2 mg. di adrenalina. Inoltre essi notarono che il glicogeno epatico diminuiva e lo zucchero del sangue aumentava più dopo l'ablazione del pancreas e l'iniezione di adrenalina che non dopo l'ablazione del solo pancreas. HÉDON e GIRAUD (31), dopo la pancreatectomia osservarono nei cani notevole iperglicemia e PAULESCO (32) vide diminuire considerevolmente il potere del fegato di ritenere il glicogeno nei cani ai quali aveva asportato il pancreas. Oltre l'adrenalina anche alcune sostanze parasimpaticomimetiche influenzano la funzione glicogenica. DOYON e GARNIER (33) dimostrarono che l'atropina protegge in vivo la cellula epatica dall'azione dell'adrenalina e nelle esperienze sugli animali, nei quali provocarono paralisi del vago con atropina, notarono che la perdita del glicogeno era maggiore dopo l'iniezione di sola atropina che non dopo l'iniezione di atropina e adrenalina iniettate l'una dopo l'altra. DOYON (34) con altre ricerche vide che la pilocarpina e la colina determinano anche diminuzione del glicogeno epatico e che l'azione della colina è di gran lunga inferiore a quella della pilocarpina. PITINI (35), nei cani ai quali con la corrente indotta stimolava il plesso celiaco, notò che la diminuzione del glicogeno, ricercato col metodo di BRÜCKE-KÜLZ, era maggiore in quelli atropinizzati che in quelli a vaghi integri. La paralisi del vago da atropina e il taglio di questi nervi nell'addome agiscono come l'eccitazione del simpatico addominale e dello splancnico, diminuendo cioè il glicogeno epatico e aumentando invece il glucosio del sangue, come osservò pure DUBOIS (36). DOYON e MOREL (37) studiarono pure l'azione di parecchie altre sostanze sulla glicogenesi epatica, ricercando il glicogeno col metodo di FRAENKEL modificato da GARNIER. Di esse la glicerina, il saccarosio, il maltosio, il lattosio e l'anilina produssero diminuzione del glicogeno; il destrosio e il levulosio produssero invece aumento. Infine LOEPER (38) studiò l'azione dei purganti sulla glicogenesi epatica, dimostrando che i salini fanno diminuire il glicogeno epatico, probabilmente per eccitazione del potere amilolitico, i drastici e i colagoghi ne determinano scomparsa completa e gli oleosi non hanno che un'azione minima.

Da queste ricerche risulta che le sostanze che più influenzano e che agiscono con un meccanismo definito sulla glicogenesi epatica sono quelle ad azione simpaticotropa e quelle ad azione autonomotropa, sebbene i risultati dell'eccitamento del vago, provocato con la corrente indotta da RONCATO, e quello farmacologico con la pilocarpina e con la colina, come negli esperimenti di DOYON e KAREFF siano in contradizione.

Scopo di queste ricerche è lo studio sulla glicogenesi epatica delle

sostanze paralizzanti il simpatico (linfoganglina e apocodeina), finora non studiate e il rapporto dell'azione di esse con quella della adrenalina. La linfoganglina, che è il principio attivo dei gangli linfatici, ancora non definita chimicamente, è stata preparata secondo il metodo del MARFORI (39) ed iniettata in dosi considerevoli per la sua scarsa tossicità. L'apocodeina della Casa MERCK è stata usata sotto forma di cloridrato, alla dose di 1 cgr. per Kg. di peso negli animali da esperimento. Gli esperimenti sono stati fatti su cani alimentati giornalmente con 300-500 gr. di pane per 5-6 giorno prima dell'esperimento. Essi erano sacrificati per dissanguamento e puntura bulbare. Alcuni, non sottoposti alla azione di alcuna sostanza, per stabilire il contenuto normale di glicogeno epatico, altri dopo pochi minuti dall'iniezione endovenosa di adrenalina, altri ancora dopo 30-45' minuti dall'iniezione di linfoganglina o di apocodeina. Il glicogeno è stato calcolato in forma di glucoso in 100 cmc. di estratto acquoso dell'intero fegato e riportato alla quantità totale e non come negli esperimenti di DOYON e dei suoi collaboratori.

Dei numerosi metodi che si conoscono per la determinazione quantitativa del glicogeno, quelli ponderali e volumetrici di CL. BERNARD, di BRÜCKE e di PFLÜGER, quelli modificati da BRÜCKE-KÜLZE, da FRÄNCKEL e da PFLUEGER (40), quello colorimetrico di BLOOR, sperimentato recentemente da H. POLICARD e R. NOËL (41) e quelli istologici con la gomma iodata usati da PAULESSCO, da GILBERT e JOMIER ed altri autori, e quello di VASTARINI-CRESI (42) che si fonda sulla colorazione che assumono o non le cellule epatiche con cloridrato di rosanilina in presenza o in assenza di glicogeno, ho preferito il metodo di BRÜCKE con le modificazioni che descriverò.

Il fegato, subito dopo la mor te dell'animale, ridotto in minutissimi pezzi, veniva cotto nell'acqua bollente, la quale distrugge il fermento che trasforma il glicogeno in glucosio (BERNARD (43)), con aggiunta di KOH (KÜLZ (44)) nella proporzione di gr. 4 in 400 gr. di acqua per ogni 100 gr. di fegato. A cottura completa e dopo raffreddamento le sostanze proteiche erano precipitate a freddo con acido tricloracetico (FRÄNCKEL (45)) in soluzione concentrata (REALE (46)).

Con questo reattivo, che è tra i più sensibili e relativamente meno costoso, non vengono precipitati albumosi e peptoni e perciò la precipitazione si completava col reattivo di BRÜCKE che precipita queste sostanze. Così trattato l'estratto epatico, si versava su filtro di carta, ma solo dopo 2-3 giorni si riusciva ad ottenere un filtrato limpido e privo di sostanze proteiche, nel quale mediante la precipitazione con alcool si riusciva a precipitare una scarsissima quantità di glicogeno, probabilmente a causa di idrolisi.

Avendo intanto osservato nelle prove dei diversi metodi di ricerca del glicogeno che col procedimente di BRÜCKE col quale la cottura del fegato è fatta in acqua semplice, cioè senza aggiunta di KOH,

rimanevano dei residui di tessuto epatico che, spremuti sul filtro, davano luogo alla formazione di una sostanza scura, intimamente aderente alle pereti del filtro, la quale rendeva sollecita la filtrazione, pensai di filtrare attraverso carbone animale, come nel metodo di CL. BERNARD (47), non trascurando l'osservazione di KÜLZ (48), il quale ha reso no to che il carbone asporta completamente il glicogeno dalle sue soluzioni. Nei miei esperimenti invece ho potuto dimostrare che la filtrazione col carbone offre il vantaggio della rapidità in confronto con la filtrazione semplice e con quella con sostanze indifferenti, come il talco veneto, potendosi avere in 2-3 ore un filtrato limpidissimo, poco colorato e privo assolutamente di sostanze proteiche, e che la quantità di glicogeno trattenuta sul filtro è minima rispetto a quella che passa nel filtrato, poichè, lavando ripetutamente il filtro con acqua bollente, nella prima acqua di lavaggio, dopo precipitazione con alcool, ho trovato 8-11 cg. di glicogeno, nella seconda acqua traccie quasi indosabili e nella terza assenza completa di precipitato. Quando nel filtrato la presenza di sostanze proteiche non era più svelata dall'acido tricloracetico a caldo, dal reattivo di BRÜCKE a freddo, dal rettivo di GNEZDA-FITTIPALDI e dalla reazione del biureto, si precipitava il glicogeno con alcool a 98°-95° nella proporzione di due volumi di alcool per un volume di filtrato e lo si lasciava depositare per 24 ore. Si raccoglieva poi sul filtro, lo si lavava due o tre volte con alcool ; poi con etere e infine nuovamente con alcool a 95°. Si essiccava nella stufa a 100° C, si poneva in essiccatore con acido solforico e infine si pesava. Il glicogeno, così ottenuto, è costituito da una polvere amorfa, bianca, inodora, insipida, che, sciolta in acqua dà una soluzione opalescente, la quale per aggiunta di qualche goccia di soluzione di LUGOL assume una colorazione rosso mogano che scompare a caldo e ricompare col raffreddamento. Una soluzione acquosa di questo glicogeno bollita con acidi minerali o trattata con saliva si trasforma in glucosio, riducendo il reattivo di FEHLING. Esso è impuro, come si può desumere dall'inversione in glucosio. Per ridurre infati 10 cmc. di liquido di FEHLING, che normalmente vengono ridotti da 5 cg. di glucosio, occorrono 70 cg. del glicogeno preparato col medoto descritto e perciò un gr. di esso corrisponde a 7 cg. di glucosio e poichè normalmente gr. 1,80 di glucosio corrispondono a gr. 1,63 di glicogeno, così 7 cg. corrispondono a 6 cgr. di glicogeno. Essendo quindi contenuto in 1 gr. solo 6 cg. di glicogeno, il 94 % è perciò dato da altre sostanze. La presenza delle sostanze proteiche, sfuggite ai mezzi di indagine descritti, è da escludersi, essendo riuscita negativa la ricerca di esse anche col metodo di KJELDAHL. Lo iodo, proveniente dal reattivo di BRÜCKE e svelato dai vapori violetti svoltisi durante la trasformazoine delle sostanze azotate in solfato di ammonio col KJELDAHL, è stato quantitativamente dosato col metodo di PAOLI-

NI (49). Con questo metodo si ha sviluppo di idrogeno allo stato nascente che riduce lo jodo dalla sua combinazione formando acidi jodidrico e questo, in presenza di polvere di zinco in eccesso, diventa subito joduro di zinco. Lo jodo estratto con solfuro di carbonio e poche goccie di nitrito di sodio e dosato volumetricamente con la soluzione titolata di iposolfito sodico è contenuto nella proporzione di gr. 0,07280 per ogni grammo di sostanza. Le altre sostanze sono rappresentate dal mercurio, pure proveniente dal reattivo di BRÜCKE, da sostanze estrattive (guanina, ipoxantina e xantina) e da sostanze minerali, che entrano normalmente nella composizione del fegato: Cl, H^3PO^4, H^2SO^4, K, Na, Ca, Mg, FeO, fosfati di ferro, ossido di rame, di piombo, di manganese e acido silicico.

Nell'annessa tabella sono riassunti i risultati degli esperimenti dai quali si può vedere che gli animali cui fu iniettata per via endovenosa adrenalina, forniscono le quantità minori di glicogeno, gli animali ai quali furono rispettivamente iniettate nelle vene linfoganglina ed apocodeina forniscono le maggiori quantità di glicogeno, le cifre medie, cioè normali, sono date dagli animali cui non fu iniettata alcune sostanza.

CANI ALIMENTATI CON 300-500 GR. DI PANE ED ACQUA A VOLONTÀ.

Peso del corpo	Peso del fegato	Quantità totale di glicogeno dosato sotto forma di: glicogeno	Quantità totale di glicogeno dosato sotto forma di: glucosio	Quantità corrispondente: glicogeno depurato	Quantità corrispondente: glucosio corrispettivo	Media % sotto forma di Glicogeno-Glucosio	Osservazioni
			ESPERIMENTI SU CANI NORMALI.				
Kg. 8.000	gr. 246	gr. 2.90	gr. 3.69	gr. 1.28	gr. 1.50	gr. 1.15 / gr. 1.35	
Kg. 9.000	gr. 387	gr. 3.98	gr. 4.64	gr. 1.03	gr. 1.20		
			ESPERIMENTI CON ADRENALINA.				
							Iniezione endovenosa di
Kg. 7.000	gr. 302	gr. 3.20	gr. 3.74	gr. 1.06	gr. 1.24	gr. 1.00 / gr. 1.17	» » mg. 7 ½
Kg. 5.000	gr. 180	gr. 1.19	gr. 1.98	gr. 0.94	gr. 1.10		» » mg. 2 ½
			ESPERIMENTI CON LINFOGANGLINA.				
							Iniezione endovenosa di
Kg. 7.400	gr. 182	gr. 2.85	gr. 3.33	gr. 1.57	gr. 1.83	gr. 1.80 / gr. 2.10	» » cm^3 35
Kg. 5.700	gr. 386	gr. 6.61	gr. 7.72	gr. 2.03	gr. 2.37		» » cm^3 35
			ESPERIMENTI CON APOCODEINA.				
							Iniezione endovenosa di
Kg. 5.000	gr. 398	gr. 5.57	gr. 6.48	gr. 1.40	gr. 1.63	gr. 1,33 / gr. 1.66	» » cgr. 5
Kg. 4.600	gr. 233	gr. 3.43	gr. 3.96	gr. 1.46	gr. 1.70		» » cgr. 5

CONCLUSIONI.

Da questi esperimenti si possono trarre le seguenti conclusioni :

1° L'adrenalina produce diminuzione del glicogeno epatico, mentre la linfoganglina e l'apocodeina producono aumento.

2° Si può ammettere che tra queste sostanze esista antagonismo d'azione, in quanto che l'adrenalina, eccitando le terminazioni dei nervi glicosecretori nella cellula epatica, mobilizza maggiore quantità di glicogeno, la linfoganglina e l'apocodeina invece, paralizzando le terminazioni di questi nervi, trattengono nel fegato maggiore quantità di glicogeno.

LETTERATURA.

1. N. C. PAULESCO. — Origines du glycogène. *Comp. rendus Soc. Biol.* LXXV. 1913. pag .235.
2. MAC DONNEL. Citato da Beaunis e Aducco. *Fisiologia Umana.* I Vol. pag. 114.
3. VOIT. — Citato da M[me] J. Gatin. Gruzewska lavorose guente.
4. ISCHERINOFF, PRAUSNITZ, KÜLZ, HERZENHAHN e OTTO. Citati come sopra.
5. SCHÖNDORFF. — Citato come sopra.
6. M[me] J. GATIN-GRUZEWSKA. — Composition du foie de chiens nourris en vue de la production de la quantité maximale de glycogène. *Comp. rendus de la Soc. de Biologie.* Vol. LVII. 1905. pag. 423.
7. PAVY. — Citato da Luciani. *Trattato di Fisiologia dell'uomo.* Vol. I. pag. 799.
8. L. GARNIER. — Quelques chiffres sur la teneur du foie en glycogène chez l'homme sain. *Comp. Rend. Soc. Biol.* LVIII. 1906. pag. 425.
9. MEISSNER. — Citato da Beaunis e Aducco. *Fisiologia Umana.* I Vol. pag. 126.
10. A. SLOSSE. — Citato da Beaunis e Aducco. *Fisiologia Umana.* I Vol. pag. 114.
11. ADUCCO. — Trattato di Fisiologica Umana. I Vol. pag. 119.
12. NOËL PATON. — Citato da A. Roncato. Lavoro seguente.
13. A. GILBERT e J. JOMIER. — Note sur la répartition du glycogène hépatique à l'état normal et à l'état d'inanition. *Comp. Rend. Soc. Biol.* LVII. 1905. pag. 81.
14. N. C. PAULESCO. Chez un chien inanitié, le foie subit-il une diminution de glycogène uniformément répartie dans tous les lobes?
    Idem. — Chez un chien alimenté, le glycogène est-il distribué d'une façon égale dans tous les lobes du foie? *Comp. Rend. Biol.* LXXIV. 1913, pag. 627, 629. I Vol.

15. Sérégé, M. H. — Sur la teneur de chaque foie en glycogène en rapport avec les phases de la digestion. *Comp. rend. Soc. Biol.* Vol. LVII. 1905. pag. 521.

Idem. — Sur la vitesse de circulation du sang dans le foie droit et dans le foie gauche chez le chien. *Comp. rend. Soc. Biol.* Vol. LVII. 1905, pag. 519.

16. L. Garnier. — Loco citato.

17. Barfurth. — *Archiv für mikr. Anatomie,* t. XXV, cité par Lépine, *Revue de médecine,* 1900, pag. 765.

18. Brault. — Les réserves glycogéniques du foie dans la cirrhose. *Presse médicale,* 29 mai 1901, p. 249.

19. Cl. Bernard. — Citato da Luciani. *Fisiologia dell'uomo,* p. 789 e seg. I Vol.

20. Morat e Dufourt. — Citato da Pitini. Lavoro seguente.

21. Boruttau. — Citato da Pitini. Lavoro seguente.

22. Vasoin. — Sul glicogeno epatico delle rane ibernanti. *Sperimentale,* Anno LVII, 584. 1903.

23. A. Rossi. — Influenza dello pneumogastrico sulla mobilizzazione degli idrati di carbonio del fegato. *Archivio di Fisiologia.* 1915.

24. Dubois. — Citato da Pitini. Lavoro seguente.

25. A. Roncato. — Rapporti tra la coordinazione nervosa e la coordinazione umorale della funzione glicogenetica del fegato. *Archivio di Fisiologia,* pag. 305. Vol. 13. 1915.

26. Cavazzani. — Citati da Roncato e da Beaunis e Aducco e Luciani.

27. Herter. — Citato da Doyon, Morel e Kareff. Lavoro seguente.

28. Blum. — *Idem.*

29. Addari. — Ricerche istologiche sulle modificazioni del glicogeno renale ed epatico in seguito alle iniezioni di adrenalina. *Arch. di Farmacologia e Terapia.* Vol. XVI. 1910. p. 273.

30. M. Doyon, A. Morel et N. Kareff. — Action de l'adrénaline sur le glycogène hépatique et sur le sucre du sang. *Comp. rend Soc. Biol.* LVII. 1905. Vol. II, p. 202.

31. E. Hédon et Giraud. — La coubre de la glycémie dans les premières heures qui suivent la pancréatectomie. *Comp. rend. Soc. Biol.* LXXXIII. 1920, pag. 330.

32. N. Paulesco. — Le glycogène dans le diabète par extirpation du pancréas. *Comp. rend. Soc. Biol.* LXXXIII. 1920, pag. 562.

33. M. Doyon et Cl. Gautier. — Action de l'adrénaline sur le glycogène du foie. Influence de l'atropine. *Comp. rend. Soc. Biol.* LX. 1908. I. pag. 866.

34. M. Doyon. — Action comparée de la choline et de la pilocarpine sur la teneur en glycogène du foie. *Comp. rend. Soc. Biol.* LX. 1908. I. 1056.

35. A. Pitini. — Influenza dell'atropina sulla glicogenolisi epatica. *Archiv. Pharmacodynamie.* Vol. 18. Anno 1908, pag. 311.

36. DUBOIS. — Loco citato.
37. M. DOYON e A. MOREL. — Action de quelques corps ternaires sur le glycogène du foie. *Comp. rend. Soc. Biol.* LVI. 1904, pag. I.
38. M. LOEPER. — Action des substances purgatives sur la zoamylie hepatique. *Comp. rend. Soc. Biol.* LVII. 1905, pag. 1012.
39. P. MARFORI. — Sull'azione biologica dell'estratto dei gangli linfatici e sulla funzione ormonica degli stessi. *Arch. di Fisiologia.* Vol. XIV. 1916, pag. 285.
40. PFLUEGER. — Citato da Fil. Bottazzi. *Chimica Fisiologica.* Vol. 2, pag. 406.
41. A. POLICARD. — R. NOËL. *Comp. rend. Soc. Biol.* Anno 1922.
42. VASTARINI-CRESI. *Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli N° I.* pag. 104.
43. CL. BERNARD. — Citato da Luciani e Beaunis e Aducco.
44. R. KÜLZ. — Citato da Beaunis ed Aducco. *Fisiologia.* Vol. I.
45. FRÄNKELL. — Citato da Fil. Bottazzi. *Chimica Fisiologica.* Vol. I. pag. 104.
46. E. REALE. — *Manuale di Chimica Clinica.* pag. 22.
47. CL. BERNARD. — Citato da Beaunis e Aducco. *Fisiologia.* Vol. I. pag. 111.
48. R. KÜLZ. — Citato da Beaunis e Aducco. *Fisiologia.* Vol. I. pag. 112.
49. PAOLINI. — *Moniteur scientifique.* Tom. 23. 648. 1909.

FROM THE PHARMACOLOGICAL LABORATORY OF THE UNIVERSITY OF MICHIGAN.

The effect of épinephrine upon the number of Blood Cells

BY

CHARLES W. EDMUNDS & RUTH P. STONE.

Ann Arbor, Michigan.

A phase of epinephrine action which has attracted considerable attention in the past few years is the change which the alkaloid produces in the blood picture. The particular alterations which follow its injection have been variously described, some discussing the alterations in the number of red blood cells, while others have confined their attention to the white blood cells, the changes in their total number and in the relative numbers of the different varieties. It is interesting to note that very few workers have studied the changes in both reds and whites at the same time, usually confining their attention to the one or the other, and it was our thought that perhaps by so doing some light might be thrown upon the causes underlying the changes which are produced by this substance.

In addition, as a further aid, we have employed the ordinary pharmacological methods for investigating the circulatory changes produced by the drug, measuring the blood pressure in both systemic and portal areas, together with the volume changes in some of the organs. By these various procedures, accompanying the blood counts, we have been able to shed some light upon the circulatory changes associated with the alterations in the blood picture.

The literature of the subject is very extensive, comprising as it does not only the influence of epinephrine upon the red blood cells and upon the leucocytes, but also the effect of the nervous system and of circulatory changes upon the blood picture. It has been deemed unnecessary to review all of these papers in this place but only to call attention to the more important recent publications, as some of these papers review fully the older writings, and in certain cases, notably in the paper by ADRIENNE KAGI (1), there is a splendid critical review of the earlier work. The various papers by LAMSON give references to

the previous researches upon the changes in the number of red blood cells produced by the drug.

A review of the literature brings out certain facts very clearly, one of which is the difference in technic which has been used by the different workers ; that is to say, important differences, which would have marked effects upon the action of the drug. For instance, in some cases the epinephrine has been given subcutaneously, while in others it has been given intravenously. Marked differences in the circulatory effects would naturally result, and yet conclusions based upon one method of administration have been carried over and held to apply to the other. The dose of epinephrine administered has also been subjected to great variations. Some have given 1/2 mg. to a man, others the same dose to dogs, while still others have given 1 mg. per kilo of body weight to dogs.

Also there has been no uniformity in the time when blood examinations were made. Some counts were made not later than five minutes after the drug had been given, while others have extended the period of observation to six, twelve or eighteen hours thereafter. Most, however, have adopted a happy mean, not extending their observations beyond two or three hours, and to judge from our knowledge of the fate of epinephrine in the body it could hardly be expected to act longer than that time.

These and other sources of variations in results have been ably discussed in the paper by KAGI and need not be entered upon more fully here, except as occasion arises to explain certain differences in the results obtained by us in comparison with those reported by others.

LITERATURE.

The literature of the subject falls roughly into two groups, — that concerned mainly with changes in the white blood cells, and that having to do with the effects on the red cell count. Among the earlier papers, two which may be mentioned are those by FREY, and by FREY and LURY.

FREY (2), in his work upon the influence of the vegetative nervous system upon the blood picture, administered epinephrine in 1 mg. doses subcutaneously to rabbits and found an increase in lymphocytes during the first hour followed by an increase in polynuclears. In splenectomized rabbits, the injection of epinephrine did not call forth the lymphocytosis.

Clinical studies along the same lines were made by FREY and LURY (3) using normal individuals as well as pathological cases, and they claimed as a result of their work that epinephrine could be used as a diagnostic agent in cases of diseases of the spleen. This latter

view, however, has not been confirmed by all of the later writers.

Among the recent papers upon this general subject is an important one contributed by WALTERHOFER. (4) He administered epinephrine subcutaneously to man in 1 mg. doses and found, as have others, that there resulted in about fifteen minutes a leucocytosis which reached its high point in thirty minutes. Both neutrophiles and lymphocytes were involved. The lymphocytes increased in number more rapidly than the neutrophiles, and later their numbers fell more quickly. An examination of blood taken from vessels in different parts of the body (in rabbits) showed that the blood changes were present in all samples, that therefore it was a true leucocytosis and not an apparent one due to differences in blood distribution. The changes he considered were due to an action upon the blood forming organs, and with repeated injections of the epinephrine, definite changes were found in the bone marrow. In man, he states that the functional condition of the entire lymphatic system played quite a part in the lymphocytosis.

DANUL and POPPER (5) studied the subject by injecting 1/2 -- 1 mg. doses of epinephrine intravenously into fourteen patients. This injection was followed by the usual increase in blood pressure which was accompanied by a marked leucocytosis, both phenomena returning to normal at about the same time. They ascribed the change in the number of leucocytes to the blood pressure increase — that it was a mechanical phenomenon due to the contraction of the vessels forcing all the blood cells into the axial stream. It was thus a pseudoleucocytosis. It must be noted that DANUL and POPPER studied an entirely different phase of the subject from that investigated by most of the other workers. In the first place, they gave the alkaloid intravenously, thus causing marked circulatory disturbances, and, secondly, their observations lasted only during the first few minutes following the injection, and thus the secondary changes which had interested others entirely escaped them.

SCHENK (6) studied the changes on man, using patients with various diseases as subjects. He employed synthetic suprarenin hydrochloride in doses varying from 1.2 to 2 mg. given by subcutaneous injection. In patients with normal blood findings, he found in from 30 to 40 minutes the marked leucocytosis which has been described by others. In two experiments the red cell count was also followed, an increase being shown, amounting in one case to almost a million cells. SCHENK was interested especially in the relation of the spleen to the increase in white cells, and he found in patients who had had their spleens removed the same blood changes as in normal persons. This was not true immediately after splenectomy but was found some weeks later. SCHENK considered that the increase in red cells was due to blood concentration, produced by the pressing

out of the blood serum into the parenchymatous organs. This concentration of the blood was proved by an examination of the relative amount of the dried substance of the blood and by the nitrogen content of the serum. The original lymphocytosis, he ascribed to an action upon the spleen and upon the lymph glands, while an action upon the bone marrow was hard to prove. A chemotactic action upon the bone marrow as a possible explanation was not accepted. The changes in the blood picture are therefore due to the action upon the lymphatic tissue and to the concentration of the blood.

KAGI (1) published an extensive review and criticism of the literature of the subject and gave the results of her investigations which were carried out upon nine persons, some being asthmatics, while others were normal. The need of a perfect technic is pointed out in the paper and also the necessity of remembering that epinephrine is destroyed quickly in the body, so that changes in the blood picture appearing several hours after the alkaloid has been given should not be interpreted as being due to the drug. The epinephrine was given subcutaneously in 3/4 — 1 mg. doses. The investigation showed an augmentation in the number of all leucocytes — both lymphocytes and myeloid cells being increased in much the same way, the epinephrine thus showing no special prodilection for either myeloid or lymphatic tissue. No definite change in the number of red blood cells nor in the percentage of hemoglobin was found. The conclusion reached by KAGI regarding the cause of the change in the blood picture is that it is produced by alterations in the blood stream. In the normal condition, the red cells are in the axial stream, while many whites are wandering along the so called cell-free border zone. Under epinephrine, the vascular conditions are changed and the whites are forced into the axial stream, so that the increase noted in the number of whites is a purely mechanical phenomenon. She agreed with GAISBOCK that as a result of epinephrine injection the common result is the leucocytosis, but that there is no regularity about the changes in the special cells.

BILLIGHEIMER, (7) in his researches upon the action of epinephrine upon the blood, found an absolute and relative leucocytosis with predominence of lymphocytes in the first phase and of polynuclears in the second. There was also a lowering of eosinophiles. He ascribes these changes to an action upon the blood forming tissues.

A very significant paper in this connection is the only by BOSTROM (8) which showed that under epinephrine and also under certain other conditions the increase in red blood cells is not uniform over the body, that more cells are found in the capillary blood than in the heart blood. These results contradict the findings of LAMSON and of SCOTT (9) and also of WALTERHOFER (4), who state that they found the distribution of cells to be uniform in all parts of the body, but

they are in entire harmony with the work of SANGUINETTI who found a very unequal distribution of both red and white cells under epinephrine, depending upon whether the blood for examination was taken from the splenic vein or from the capillaries of the ear. It is of importance to note that BOSTROM gave 1 cc of a 1-10.000 solution of epinephrine directly into the left ventricle of the heart, while SANGUINETTI administered from 1/2-2 mg. subcutaneously. BOSTROM explains the accumulation of cells in the periphery as due to an increase in the H-ion concentration in the peripheral tissues which would cause the red cells to lose their negative charges and thus tend to make them adhere to one another and to the walls of the vessels.

In the work of SANGUINETTI (10) it was shown that in dogs, following the subcutaneous injection of 3/4-1 mg. epinephrine, a great increase in the number of red and white blood cells was found when the capillary blood was examined, but that these changes did not appear in the blood taken from the splenic vein. SANGUINETTI ascribes these changes to a modification of the circulation which is local in character and induced by narrowing of the smaller vessels and capillaries. It is thus seen that in the essential facts of an unequas distribution of the blood cells after epinephrine administration, thel findings of SANGUINETTI agree with those of BOSTROM.

LAMSON has published several papers upon the general subject of the polycythemia produced by the administration of epinephrine and his explanation of this phenomenon as gathered especially from his final paper (11) is that the polycythemia is primarily due to blood concentration due to the loss of fluid into the liver lymphatics. This loss of fluid is brought about by a constriction of the hepatic vein producing an obstruction to the hepatic blood flow and thus an increased filtration pressure. A concentration of the blood follows, with an increased number of red blood cells per unit volume of blood. This explanation given by LAMSON is both attractive and simple, but it can be most conveniently discussed as occasion arises in connection with our own experiments rather than in its entirety. One fact, however, may be pointed out here ; viz ; that his theory calls for a uniform distribution of blood cells in the different vascular areas over the body, while BOSTRUM and also SANGUINETTI claim that this is not true. LAMSON states that the changes are uniform but gives no figures to support his statement.

SCOTT'S (9) work, which is quoted as supporting this view, does not touch upon the same aspect of the matter. In discussing the homogeneity of the blood, SCOTT says he found the hemoglobin content of carotid blood and of capillary blood to be the same. However, that was under normal conditions, so far as can be told by the context, and not under epinephrine.

EXPERIMENTAL WORK.

Our own experiments have been carried out upon rabbits and dogs. In the earlier, we utilized rabbits and gave the epinephrine in 1 mg. doses by intramuscular injection, inasmuch as doses given thus to human beings had given definite results. The blood was taken from the ear veins direct into the diluting pipettes and in making the differential counts from 300-500 cells were counted.

This phase of the work can be discussed briefly, as the results in general were decidedly unsatisfactory, the changes produced in the different animals not being uniform. In most of the rabbits, there was some increase in the total white count during the first hour after the alkaloid had been given, and this increase concerned mainly the lymphocytes. During the second hour, the polynuclears increased slightly and the lymphocytes decreased, but in any case, the numbers were not changed very much. The red count was not markedly changed in any experiment.

On account of the unsatisfactory results obtained under intramuscular injections of the drug, we next resorted to intravenous administration, injecting the epinephrine into an ear vein. Here, too, we encountered difficulties, principally that of danger from the injection of the drug. In more than one case the administration of a 1-1.000 solution was followed in two or three minutes by unrest of the animal, a convulsion and death. Post mortem examination revealed marked congestion of the lungs, a condition which had been indicated before death by blood stained fluid issuing from the nose. We accordingly cut down the dose of epinephrine to 1 cc of a 1-50000 solution, but as a result of this small dose, our results upon this phase of the work are not quite in harmony with previous work. Our experience as to fatalities is by no means unique, as there were found numerous references in the papers devoted to this phase of the subject in which rabbit after rabbit was noted as having died very soon after the injection. The interesting aspect is that some workers, even with the injection of large doses, seem to have had no fatalities, judging from the absence of comment in their papers and still more by personal assurances (LAMSON) that no deaths had occurred. Even in dogs under the most careful administration of the larger doses, we occasionally had marked symptoms and even death. In the lungs of one of the dogs which died after epinephrine, a microscopical examination of the lungs showed « acute congestion, oedema and multiple hemorrhages. »

With the intravenous injection of the small doses of epinephrine (1 cc-1-50.000 solution) in rabbits, we obtained in every case a lowering in the total number of white cells, this decrease being due to a

decrease in polynuclears. In from an hour to an hour and a half, there was a slight rise, indicating a return toward normal. The red cell count in general followed the total leucocyte count, but paralleled perhaps more closely the polynuclear curve than that of the lymphocytes.

To investigate further the lowering in number of white blood cells and at the same time avoid the danger of death from the single large dose of epinephrine, we resorted to repeated injections of the smaller doses, giving them as frequently as possible, each being given as soon as the effects of the former dose had passed off. In this way, we gave six or eight injections of a 1-25.000 solution in the course of an hour or an hour and a half. We found in all of these animals that there was a marked decrease in total whites, in both lymphocytes and neutrophiles and also in the number of red blood cells — the curve of the reds running very closely parallel to the leucocyte count.

A study of these curves, emphasizing as they do the effects of the single doses, would seem to show by their very close parallelism that there was no selective action upon any one structure or tissue concerned with blood formation but rather a general action affecting the entire blood. It would have been natural, however, in the light of previous work to have expected a concentration of the blood, as indicated by an increase in all the cellular elements of the blood, but the reverse is true, indicating either a uniform withdrawal of cells from the blood, or a dilution of the blood, which, indeed, would have to be very considerable in order to lessen the number of white cells in the circulating blood from 11.500 to 3.500.

INTRAMUSCULAR INJECTION IN DOGS.

Finding the work upon rabbits rather unsatisfactory and contradictory, we continued our investigations on dogs, administering the epinephrine in our first series of animals by subcutaneous or intramuscular injection, using both small and large doses. The advantage, of course, of giving the alkaloid in this way is that marked circulatory effects are eliminated, thus getting rid of one complicating factor. The blood was obtained by pricking the nose. The immediate effect of an injection of from 1 to 4 mg. of epinephrine was an increase in total number of leucocytes, reaching its maximum in about an hour and a half, when the number began to decline. During the first hour, this increase in almost all cases concerned both lymphocytes and polynuclears, but at the end of an hour the lymphocytes began to decline in number, while the polynuclear curve continued to rise. There was not the clear cut diphasic condition which has been described by some workers, in that both varieties of leucocytes began to increase in numbers immediately after the alkaloid was given,

unless we should describe as « the first stage » the interval from the time of the injection until the lymphocytes have attained their maximal number, while during the second stage the lymphocytes are decreasing in number and the polynuclears are still increasing.

The red blood count was not markedly altered by injections of from 1 to 4 mg. of epinephrine, doses which are sufficient to modify greatly the leucocytic picture. Doses larger than those mentioned, when administered by intramuscular injection (0.75-1 mg. per Kg.) raised the red blood count from 500.000 to 1.000.000 per cmm., as has been shown by other workers. In some animals the preliminary rise was followed by a diminution in red cell count, amounting in one animal to a two million decrease.

Intravenous injection in dogs.

The effects of epinephrine upon the blood picture when it was given by intravenous injection to dogs were in general more uniform

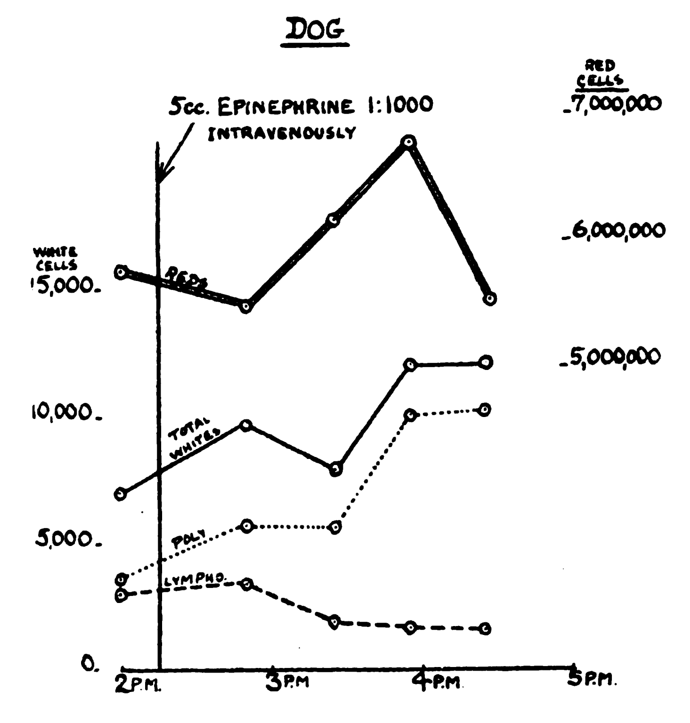


Figure 1. — Chart showing the usual effect ot epinephrine upon the number of blood cells. Number of red cells is shown by double line with scale at right; total number of leucocytes by heavy line with scale at left; polynuclears by dotted line and lymphocytes by broken line.

and clear cut than when it has been given by subcutaneous or intramuscular injection.

In almost every case, there was the marked increase in polynuclears, with a smaller but usually well defined increase in lymphocytes. At the end of an hour the lymphocytes began to decline in numbers, while the polynuclears continued to increase for at least another hour. The red blood cells showed in general a well defined increase, usually reaching its maximum in an hour and a half. (Fig. 1.) Where the dose had been relatively small (2 mg. to a 10 Kg. dog), no increase in reds appeared, but there was a marked decrease at the end of an hour and a half, similar to results obtained by intramuscular injection.

The influence of the spleen upon these blood changes was studied in two animals. The organ was removed, a count made, and then the epinephrine was injected intravenously in doses of 1 mg. per Kg. body weight. It could not be seen that the removal of the spleen altered the reaction in any essential way, our experience in this regard agreeing with that of previous workers who have investigated this aspect of the problem. One of the dogs we subjected to splenectomy responded in a perfectly normal manner so far as red blood cells and polynuclears were concerned, while the lymphocytes did not change in number greatly ; but no less changes had been found in some other animals possessing their spleens.

DISCUSSION.

In searching for an explanation for these changes, there are, therefore, various factors which must be considered. A drug such as epinephrine, which has such a widespread action in the body, would probably bring about a complicated reaction, as its marked circulatory disturbances would be modified in their effets upon the blood picture by the action of the drug upon the spleen and other lymphatic tissue and possibly also upon the bone marrow.

The explanations which have been offered for the changes in leucocyte count are, first, that they are the result of the circulatory changes produced by the alkaloid ; that is, that cells which normally wander along in the peripheral zone are by the contraction of the vessels forced into the axial stream. The other explanation is that the changes are the results of a specific action upon the blood forming organs. The latter explanation would, of course, account for the variations in reaction encountered, depending as they would upon the condition of the specific tissue or organ in the individual animal.

Among the theories for the polycythemia produced in dogs by epinephrine, is one advanced by LAMSON and his co-workers. Briefly stated, according to this view, the polycythemia is produced in dogs by a contraction of the hepatic veins which causes an obstruction to the outflow of blood from the liver thus raising the portal pressure and increasing the outpouring of lymph into the hepatic lymph spaces,

thereby concentrating the blood. After a time, the lymph is restored to the blood by way of the thoracic duct. The liver is thus a blood concentrating organ.

In the rabbit, no such series of events is said to follow, on account of the difference in the minute anatomy of the hepatic veins. There is not so much muscle there and what is present is said not to respond by a contraction to epinephrine and, therefore, there being no increase in portal pressure, there is no outpouring of lymph and no blood concentration.

A survey of the whole subject of the effect of epinephrine upon the blood picture of dogs shows certain definite facts. Despite animals which react in an irregular and entirely unexplained manner, there is sufficient uniformity about the vast majority to make certain definite statements.

In the first place, it is evident that the leucocytes are more susceptible to the influence of epinephrine than are the red blood cells. It takes a very much larger dose to cause an increase in the number of red cells of the dog than it does in the whites. One milligram in a good sized dog will markedly alter the whites, while it takes from 0.75 -1mg. per kilo to increase the reds in a definite manner.

That the cause of the alteration in the counts must be different in the case of the reds and of the whites is indicated by the fact that the leucocyte ratio is modified by the epinephrine in both dogs and rabbits, while an increase in reds, it is said, cannot be produced by the alkaloid in rabbits, although the effects on the white cells of the rabbits are well recognized. As a matter of fact, in rabbits, in place of an increase in red cells, we have in many animals obtained a well marked decrease. This phenomenon was especially well marked in the animals in which the epinephrine was given by repeated injections of rather large doses.

It is thus seen that the causes underlying these blood changes are quite complex. As a matter of fact, there is no complete agreement among investigators as to which factor plays the largest rôle, and it may be questioned whether many factors may not have different effects. The results of an examination of some of these influences are given below.

A further study of the rabbit was first undertaken, partially on account of the discrepancy in the reaction toward reds and whites and with the thought that perhaps this animal might furnish the key to the solution of the problem.

In the first place, the paper of MAUTNER and PICK (12) is well known and has been often quoted in this respect. They claimed that, due to rudimentary innervation, the livers of herbivora act indifferently toward most vessel-poisons and that even epinephrine in a 1-1.000 dilution has no action. This failure of the liver of herbivora

to react is perhaps explained by the anatomical researches of AREY and SIMONDS (13) who found little muscle in the hepatic veins of rabbits, while those of the dog were abundantly supplied.

We have studied the reaction of the rabbit's liver to epinephrine in several ways, by simple perfusion, by volume changes, by portal blood pressure changes, and, finally, by an examination of the reaction of the hepatic vein itself to epinephrine.

One of us (E.) showed sometime ago that when the liver of a dog is perfused through the portal vein with dilute epinephrine solution, it responds with a contraction, as shown by diminished outflow, the normal of 275 cc. per two minute interval being reduced to 240 cc.

A similar study of rabbits has been carried out by MC. LAUGHLIN, working in this laboratory. He has perfused the livers of large numbers of animals, inserting the cannulas in the portal veins and measuring the outflow from the hepatic. RINGER's solution maintained at body temperature was used as a perfusion fluid. He obtained contraction from epinephrine in every case (20 rabbits) where the liver was used immediately after the death of the animal. In two livers which were kept at room temperature for three or four hours before perfusion was begun, evidence of some dilatation was found. In many cases (21) the livers were placed in a cold room and kept over night when they were brought to body temperature and perfused. Even in these livers, vaso-constriction was obtained in almost every case. In but three was there evidence of dilatation. The work of MC. LAUGHLIN, then, shows that when the fresh livers of rabbits are perfused with epinephrine, they respond with contraction of their vessels. It would seem to indicate also that after being kept for a time before perfusion a certain small percentage may respond with dilatation but even then contraction results in the vast majority.

The figures from one typical experiment may be given, the readings being for intervals of one minute each.

Normal-Ringer's solution. Temperature 37°.

43.5 cc. ; 44, 45, 45, 45.

1 cc. Epinephrine solution (1-1.000) to 1 Liter Ringer's Solution.

44 cc., 37, 37, 36, 36.5, 36.

Ringer's Solution.

37.5, 38.5, 42.5, 42, 43, 43.5 cc.

The study of the reaction of the livers of herbivora to epinephrine is being continued on account of the cases of dilation which have been mentioned and also because in some guinea pigs a similar reaction has been encountered.

The correctness of MAUTNER and PICK's statement regarding the reaction of the hepatic vein in herbivora when exposed to epinephrine was further examined by the isolated tissue method. This is possible in rabbits on account of the anatomical arrangement of these veins,

there being a distinct hepatic vein in these animals outside of the liver substance between the liver and the vena cava, which arrangement does not hold for dogs. A ring was cut from a vein issuing from one of the right lobes, great care being taken not to include any of the vena cava, an error which can easily be avoided on account of the different direction of the fibers in the two vessels. The ring so prepared, being about 4 mm. wide, was placed in warm oxygenated RINGER's solution and adjusted to write in the usual manner. The addition of epinephrine to the RINGER's solution resulted in each trial in well marked contractions. So far as its reaction to epinephrine is concerned, there does not seem to be any inherent difference in the muscle of the hepatic vein of the rabbit from the muscle found in other veins of the body.

VOLUME CHANGES.

The changes in the volume of the liver of the rabbit under the influence of epinephrine were next investigated. For this purpose, we employed essentially the same method which was used earlier with livers of dogs and cats. The right posterior lobe was utilized and a special oncometer was fashioned to fit it roughly. This was closed by a piece of glass, the intervening space being filled with a thin rubber bag filled with warm water. A tube from this bag was connected with a large piston recorder.

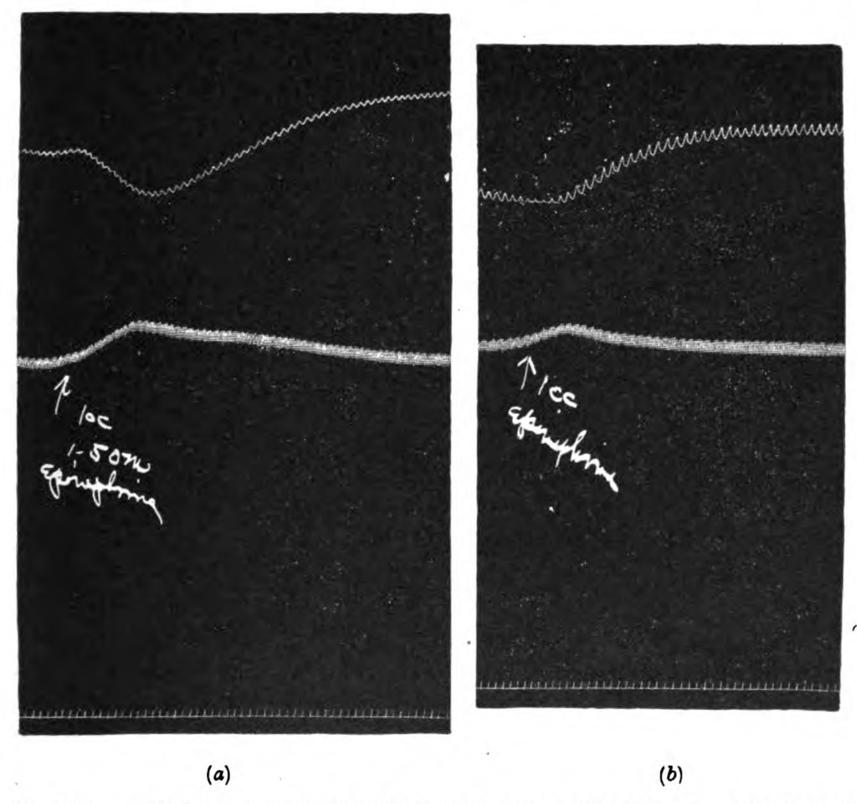
The injection of epinephrine was followed by a well marked diminution in the volume of the organ, followed by a dilatation which was considerably greater than normal. The general curve resembled closely that described for the dog. With slightly larger doses, the decrease in volume was less marked while the subsequent dilatation was more pronounced.

The artery going to the lobe of the liver was now isolated and clamped. This procedure modified the epinephrine curve to the extent of greatly lessening the decrease in liver volume but not essentially altering the later dilation. These points are well shown in the tracings (Fig. 2 a-b) reproduced ; and it will also be seen how closely they agree with curves previously published which were taken from the liver of the dog. As in the dog, the main vasomotor changes come through the hepatic artery, but even with this artery closed, there is still some slight diminution in volume which is doubtless due to the lessened amount of blood received from the constricted intestinal vessels.

There is, therefore, no essential difference between the volume reactions of the liver of the rabbit and those of the dog, the initial slight diminution being always followed by a marked dilatation, the latter phase becoming more conspicuous as the dose of epinephrine is increased.

Portal Blood Pressure.

The portal blood pressure in rabbits was now investigated. This investigation was of great importance, as, upon the results obtained, depended explanations which have been given for the failure of the rabbit to react to epinephrine with a polycythemia. A large rabbit was anaesthetized with paraldehyde and the usual cannulae inserted.



(a) (b)

Figure 2. — Volume changes in rabbit's liver under epinephrine; 2a with hepatic artery open; 2b with artery clamped. Volume record above; blood pressure recorded by tonograph below. Time in seconds.

An incision was made along the right semilunar line from the border of the ribs caudalward and the intestines drawn to the left, exposing the portal vein. The right posterior lobe of the liver, well separated from the rest of the organ, was utilized, and ligatures having been arranged, a large glass tube filled with sodium sulphate solution was inserted into a cut made in the branch of the portal vein supplying this lobe, and the tube was pushed gently forward into this opening until it just entered the main portal vein where it was secured. The other end of the tube was connected by rubber tubing with a « U »

tube also filled with the sulphate solution. The other arm of the « U » tube was connected with a large piston recorder. The injection of epinephrine in small doses (0,5 c.c. of a 1-25.000 solution) was followed by a marked fall in portal blood pressure which returned to near the normal level as the systemic pressure was also approaching the normal. (Figure 3 a)

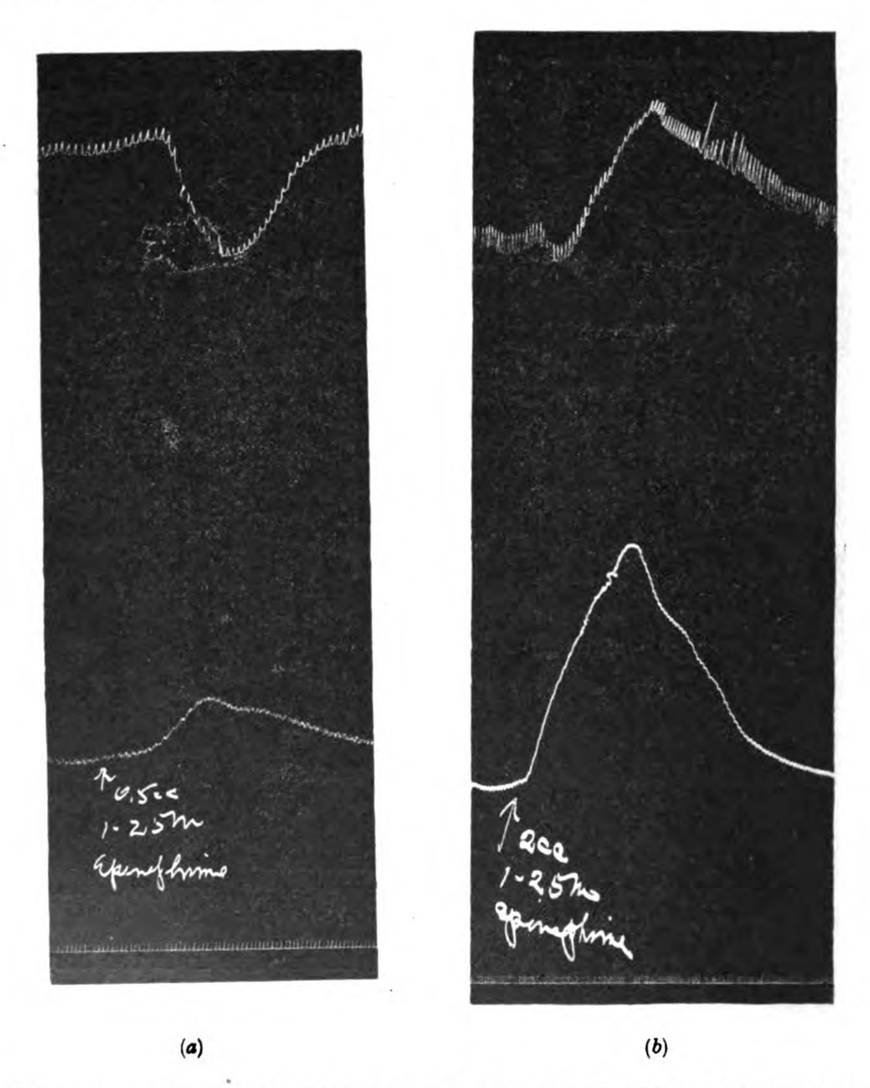


Figure 3. — Portal blood pressure in rabbit under epinephrine. Portal pressure curve is above; blood pressure (mercury manometer) below. 3a shows effect of small dose of epinephrine; 3b shows effect of larger dose.

With 1 cc. doses, the fall in pressure was less marked, but it was followed by a pressure which was considerably above the normal and

which was well sustained. With still larger doses (2 cc. of a 1-25.000 solution), the original fall was practically eliminated, while the rise was more marked and considerably prolonged. (Figure 3 b.)

The effect, then, of minimal doses of epinephrine, — doses which were sufficient to raise the systemic pressure slightly, — was to lower the portal pressure, while doses which were a little greater produced in every case a great increase. Similar differences in reaction between the effects of small and large doses were also reported in the earlier paper on « Vasomotor Reactions of the Liver » (14), and they show that even with the differences which have been described in the anatomical structure of the hepatic veins of the rabbit as compared with the dog, there is no essential difference in the reaction of the animal toward epinephrine so far as its liver volume changes, portal pressure changes and the reaction of the hepatic vein are concerned. There are the same factors at work in all the animals tending to modify the results, the conditions in the vessels of the liver which have been mentioned ; the supply of blood through the portal ; the alterations in the blood pressure in the vena cava which were shown in the earlier paper to influence greatly the emptying of the liver ; and the action of the hepatic vein itself, which, as has been shown in this paper, is capable of contracting under the influence of epinephrine.

In the action of the intact animal, nothing has been shown which could indicate in any way a radical departure from the general rule which holds good for cats and dogs. There are evidently numerous factors involved, and the special type of reaction exhibited would depend upon which combination exerted the predominant influence. And this combination in turn is greatly influenced in the cat and rabbit certainly by the dose of epinephrine ; and yet the reaction of the rabbit would appear to approach more closely the type exhibited by dogs.

Considerable space has been devoted to the question of the reaction of the rabbit's liver to epinephrine, because upon it depends the explanation which is given for the failure of the rabbit to react to epinephrine with polycythemia. According to LAMSON, it is due to the failure of the hepatic veins of the rabbit to contract, thus presumably failing to obstruct the venous outflow and therefore not raising the portal blood pressure which, according to him, is essential for the production of epinephrine polycythemia. We have been able to show, however, that the hepatic vein in the rabbit *does* respond to epinephrine by constriction, that following a primary diminution in liver volume, there is a marked increase in volume of the organ and, finally, that the portal blood pressure in rabbits undergoes a great increase over normal when epinephrine is given in doses even so small as 1 cc. of a 1-25.000 solution, and that as the dose is increased the augmentation of the portal pressure becomes greater and greater.

LAMSON'S explanation for the failure of polycythemia in rabbits would seem, then, to be incorrect. It would also appear that it was formulated upon certain reasonings based upon some anatomical investigations, without subjecting either hepatic vein or the portal blood pressure in the rabbit to any physiological investigation. The cause of the failure of epinephrine polycythemia in rabbits is still an open question.

EPINEPHRINE POLYCYTHEMIA IN DOGS.

The investigation was continued by an examination into some of the factors which are said to play a role in the production of polycythemia in dogs. The first studied was the circulatory change which is produced by the injection under the skin of large doses of epinephrine, doses which will bring out a well marked polycythemia. The commonly accepted view, of course, is that with small subcutaneous injections the effect upon the blood pressure is nil and there is no polycythemia. It is quite possible that with large doses (1 mg. per Kg.) which do produce polycythemia, there may be some blood pressure change ; and it is necessary in order to support the explanation which has been given that there should be such circulatory changes. A 6 Kg. dog was anaesthetized and prepared for a blood pressure record. Six milligrams of epinephrine were then injected under the skin covering the anterior part of the thorax. Blood examinations showed that within forty-five minutes the red cells had increased in number from 6.000.000 to 7.220.000, and yet the blood pressure during the whole course of observations lasting two hours did not change 5 mm. Hg.* It is inconceivable that with a uniform systemic pressure there should be any marked change in portal pressure ; changes in the one would certainly be reflected by some variation in the other. It follows, therefore, that in dogs polycythemia can occur without marked circulatory changes, in so far as they are indicated by blood pressure changes.

EFFECT OF NICOTINE.

As a corollary to the observation given above, an examination was made of the effects of nicotine upon the blood picture. Here is a drug which produces tremendous circulatory disturbances ; and if it should cause an increase in portal pressure, polycythemia should follow. And yet an increase in the number of red cells outside of the limits of error did not occur, rather was the number decreased, in one

(*) In a few dogs in which we injected the large doses of epinephrine into the muscles over the anterior thoracic region, we obtained a marked increase in blood pressure. It came on more slowly and was not so great as would have resulted from intravenous injection but at the same time it was quite considerable. To avoid such circulatory disturbances, we injected the epinephrine routinely under the skin of the flanks.

animal from 6.200.000 to 5.500.000 and in the other from 7.000.000 to 5.700.000. Of course, the question would naturally arise as to

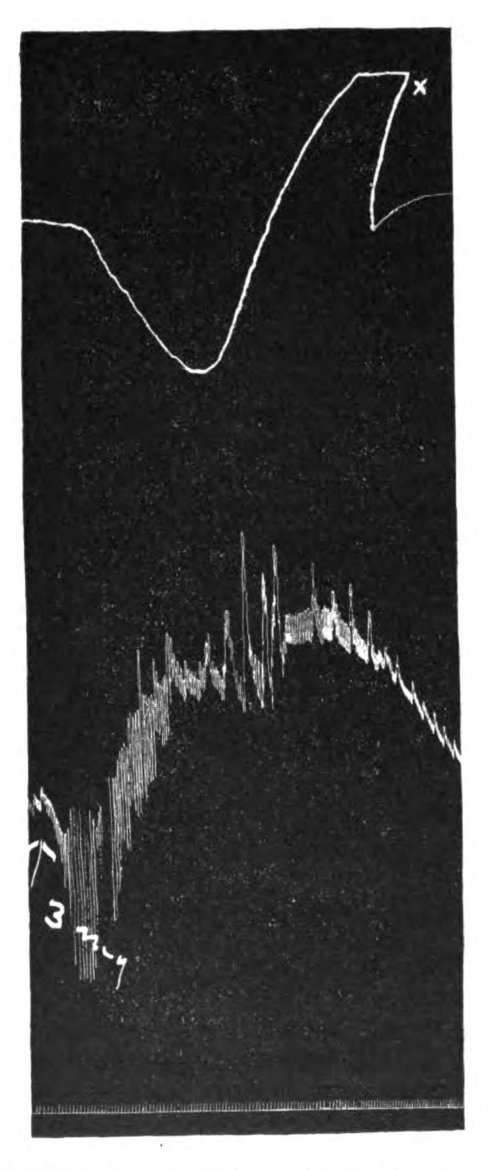


Figure 4. — Portal blood pressure of dog under nicotine. Portal pressure above; carotid pressure below.

whether the portal pressure was increased, as that seems to be the essential point in producing a polycythemia. An examination as to this point showed that such is the case. Immediately following the nicotine injection, the portal pressure fell, practically coincident with

the fall in general blood pressure, but this fall was quickly followed by a well marked and well sustained increase. (Fig. 4.) Here, then, was nicotine, producing the essential circulatory change purported to bring about a polycythemia, and yet not only not increasing the number of red cells to be found in the circulation blood but actually decreasing their number.

Epinephrine following Ergotoxin.

Another method of attacking the same problem was to administer the epinephrine after ergotoxin had been given in sufficient amounts to paralyze the vasomotor nerves. The results were rather surprising in the light of the experiments recorded in the last two sections and are not easy of interpretation.

It was found that after adequate doses of ergotoxin, that is, doses sufficient to paralyze the constrictor fibers and even to give the vasomotor reversal phenomenon, large doses of epinephrine no longer increased the number of red cells but even decreased them; and in the same way the white cells were also greatly lessened in number, as is shown in the accompanying chart. (Fig. 5). Considering

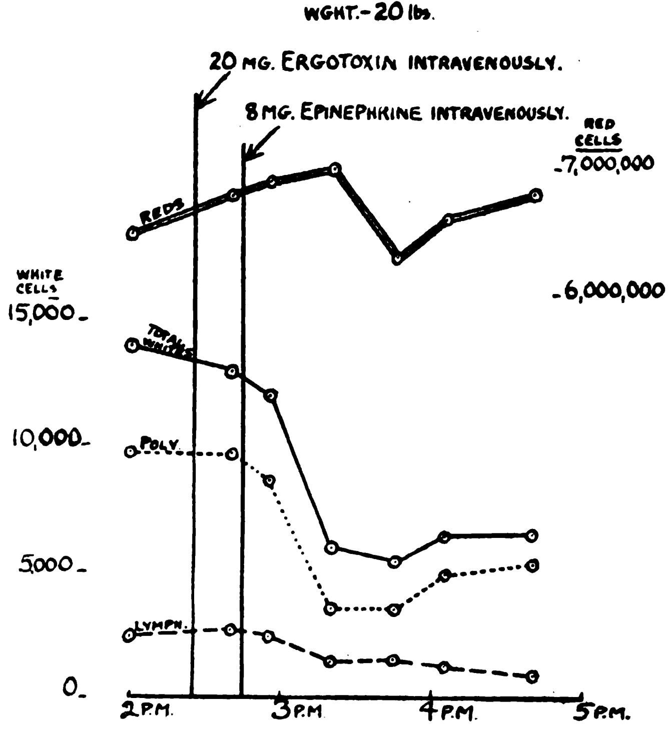


Figure V. — Curve showing effect of epinephrine upon the blood after ergotoxine. No increase in reds and lessened number of whites.

only the number of red cells, it is hard to give a satisfactory explanation of the change in the curve. At first sight, it would look as though it was an argument for the circulatory changes being entirely responsible for the polycythemia, as in the absence of those changes, there is also failure in the development of the polycythemia. On the other hand, the action of ergotoxin is not confined to the vasomotor endings but is extended to other motor sympathetic fibres, and it is not unlikely that it is its action upon some of these fibres which is responsible for its effects upon the epinephrine polycythemia curve. We shall return to the subject later. It is certainly true that the paralysis of the vasomotor fibres is not responsible for the change, as in the preceding pages we have shown that the polycythemia may occur without circulatory changes and that circulatory disturbance may occur without polycythemia.

One fact that does seem clear is that the polycythemia must come about through some nervous mechanism, which in turn is stimulated by epinephrine and is paralyzed by ergotoxin. The polycythemia cannot be merely a response to a chemical stimulus, in other words, be chemotactic in origin. The grounds for making this latter statement are self evident. The chemical substance, epinephrine, must act through some anatomical structure which in turn is paralyzed by ergotoxin.

The evidence collected thus far points to the periphery as being the point at which the epinephrine acts to produce the increase in red blood cells, and this point apparently could not be other than the bone marrow, the seat of erythrocyte formation. The great point of difficulty about this explanation, however, is that the rôle played by the liver has to be explained. According to LAMSON, the presence of this organ is essential to the polycythemia. It is true that BOSTROM has suggested an explanation which, so far as his work is concerned, seems satisfactory, but it must be remembered that BOSTROM was apparently not working with the same phenomenon which concerned LAMSON, as illustrated by the difference in epinephrine dosage and by the discrepancy in red cell distribution. It is, therefore, impossible to carry over the facts and explanations from one research to the other and to imagine that that settles the matter. If there is one thing more than another that this research emphasized, it is the dangers in such a procedure.

It seemed highly desirable, therefore, to investigate further the part played by the liver, and this we did in several animals using a slightly different technique in each. In the first dog before the epinephrine was injected, the coeliac axis was clamped, of course, excluding arterial blood from the liver as well as from the stomach and spleen. About one and a half hours later, the clamps were removed, the re-establishment of the circulation being proven by the return

of the pulse in the branches of the axis. Red blood counts were made at intervals during the course of the experiment, and spreads were taken for differential counts as usual. In another dog before the epinephrine was given, the hepatic artery was clamped, and, after a time, the clamps were removed as in the previous experiment. Blood counts were taken as usual. In these cases, careful postmortem examinations were made in order to verify the vessels closed.

The results were rather striking and even surprising, as the figures given below will show. In view of these figures, it was deemed wise to carry out a more radical experiment and to exclude the liver entirely from the circulation in order to offset any criticism that might be made to the effect that we had not completely shut off the arterial blood supply from the organ. We, therefore, removed most of the abdominal organs from the animal. After tying the coeliac axis and the superior mesenteric artery and such other vessels as were necessary, including, of course, the portal vein, we removed the stomach, the entire intestinal canal and the spleen, tying at the same time all connections at the hilus of the liver, thus excluding the organ entirely from the circulation. The animal was in good condition and maintained a normal respiration until the conclusion of the experiment three hours later. The results of the blood examinations in these animals are given herewith.

Experiment Oct. 18, 1922. Dog 22 pounds. Morphine and paraldehyde.

Coeliac axis and hepatic artery clamped.

Time	Red Cells	Leucocytes
2.30	7,020,000	12,200
2.35	10 mg. epinephrine subcutaneously	
3.05	8,720,000	17,300
3.35	7,360,000	14,550
4.05	7,390,000	14,800
4.20	Clamps removed from arteries. Good pulse in hepatic artery	
4.30	7,560,000	
4.45	7,820,000	
5.10	8,050,000	

Experiment Oct. 19, 1922. Dog 15 pounds. Morphine and paraldehyde.

Hepatic artery clamped.

Time	Red Cells	Leucocytes
2.30	6,250,000	21,400
2.35	6.5 mg. epinephrine subcutaneously.	
3.05	7,080,000	27,900
3.35	6,550,000	21,250
3.45	Clamp on hepatic artery removed. Good pulse in artery.	
4.10	7,220,000	20,300
4.30	7,690,000	

Experiment Oct. 24, 1922. Dog 15 pounds. Morphine and paraldehyde. Stomach, intestine and spleen removed. Vessels at hilus of liver tied.

Time	Red Cells	Leucocytes
2.25	7,400,000	19,650
2.30	6.5 mg. epinephrine subcutaneously.	
3.00	8,450,000	25,050
3.15	8,610,000	
3.45	8,710,000	26,650
4.15	9,340,000	20,050
4.45	8,500,000	17,000

In this animal, in what we may perhaps term a crucial test, the liver was excluded from all connection with the circulation (except

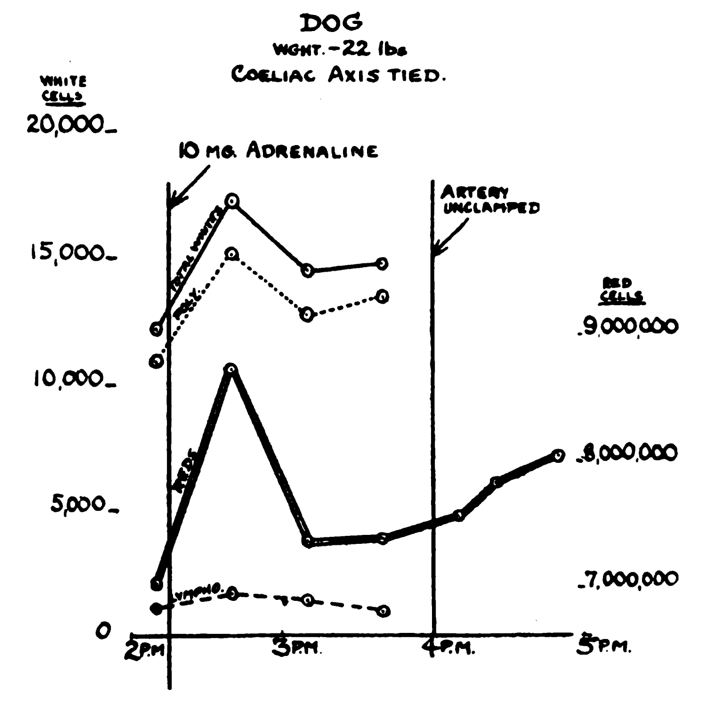


Figure 6. — Effect of epinephrine upon blood of dog when coeliac axis is tied thus isolating arterial blood from the liver. Note that increase in red cells is more marked than in normal dog and that it comes on earlier. The later increase in red cells when the clamp is removed from the artery is doubtless due to the washing out of the cells which have beer deposited in the liver and which are removed when the arterial pressure is reintroduced.

as the vena cava passes through it), and yet a marked polycythemia resulted. Indeed, the increase in the number of red cells was greater than that usually seen, doubtless due to the fact that such a large proportion of the vascular area had been removed. The differential counts for two of these dogs are shown i the charts. (Fig. 6 and 7).

A comparison of the results given above with those found in LAMSON'S papers reveals an absolute lack of harmony, for which the present writers cannot give any explanation.

UNIFORMITY OF DISTRIBUTION OF BLOOD CELLS UNDER EPINEPHRINE.

Upon this point, we have the statement of LAMSON and that of WALTERHOFER to the effect that the increase in both reds and whites

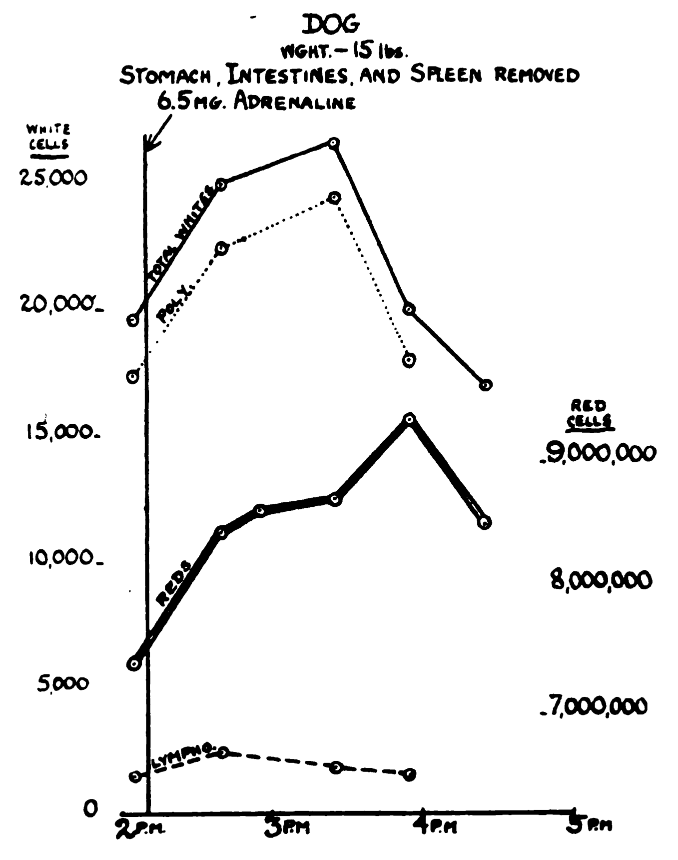


Figure 7. — Effect of epinephrine upon blood count of dog when stomach, intestine and spleen are removed isolating liver from the circulation. Note the great increase in the number of red cells.

is uniform over the body, while opposed to this view are the findings of BOSTROM and of SANGUINETTI, the former giving small doses of epinephrine into the heart and the latter giving slightly larger doses (1/2-2 mg.) subcutaneously to dogs, and each giving figures to show the great discrepancy in distribution between the cells in the capillary blood and in the blood of the internal organs. The work of SCOTT (9)



is quoted as supporting the view that the distribution of cells is uniform in the capillaries and larger vessels, but a reading of his paper shows that his discussion of this question is limited to a survey of the subject under normal conditions and not under the influence of epinephrine, which, as BOSTROM and also SANGUINETTI have shown, may be entirely different. We carried out two experiments on dogs in order to investigate this point, using large doses of epinephrine.

Our results were as follows, giving merely the figures from one dog as those from the second animal confirmed those from the first.

Dog 14 Kg. 2.5 G. Chloretone intraperitoneally.

Blood from

	Nose		*Splenic Vein*	
Time	Reds	Whites	Reds	Whites
3.00	5,710,000	25,850	6,640,000	21,900
Epinephrine 14 mg. subcutaneously.				
3.30	6,920,000	25,750	6,550,000	24,700
4.15	7,450,000	21,650	7,580,000	21,700
5.00	7,650,000	21,450	7,110,000	19,700

With the exception of the three o'clock red cell capillary reading (which would seem to be an error), there is a striking parallelism between the two sets of figures, and they would seem to show that under the conditions given, the changes in blood count produced by epinephrine are not due merely to a redistribution of cells in the circulating blood but to a definite increase in the number of circulating cells.

DISCUSSION.

The results of our experiments upon the effect of epinephrine upon the blood picture in dogs lead us to draw the following conclusions. In small doses (1 mg.), given either by intramuscular or intravenous injection, the leucocytes are altered in their total number and in the relative proportions of the different varieties in a characteristic manner. The total number of white cells is increased and this increase during the first stage, which lasts for from one half to one hour, is due to an increase in both polynuclears and lymphocytes. Following this first stage, the lymphocytes usually decline in numbers, while the polynuclears continue their upward tendency for two or more hours. The increase in total number of leucocytes depends mainly, then, upon the increase in polynuclears. Doses of epinephrine of the size named have practically no effect upon the number of red blood cells.

With larger doses of epinephrine (0.75 mg.-1 mg. per Kilo) given either intramuscularly or intravenously, the course of the curve of the leucocytes is not essentially different from that seen when the

small doses are used, but the number of red cells is markedly increased. This increase, which may number from one to two million cells per cubic millimeter, reaches its maximum usually about an hour after the drug has been given, after which it slowly subsides. Removal of the spleen before the epinephrine was injected lessened the increase in lymphocytes, which follows epinephrine injection, but otherwise it did not alter the curves from those obtained when the animal was intact. As pointed out in the body of the paper, exceptional reactions so far as the leucocyte curve is concerned are occasionally met with. For reasons presented in the body of the paper, we feel that the changes in cell count are at least partly due to an action of the epinephrine upon the blood forming organs. However, it is not at all impossible that other factors, such as a concentration of the blood, may play a part, and work is being continued in this laboratory in an effort to show how much, if at all, other factors are involved in the changes. In this view, in so far as the erythrocytes are concerned, we stand in sharp contrast to the theory held by LAMSON and his co-workers, and it is necessary to try to reconcile the two views or perhaps to explain, if possible, the reason for their divergence. Some of these causes are questions of observation or of technique, upon which there should be no divergence. Perhaps the most striking example of this kind is in the difference in the results obtained from the injection of epinephrine when the liver is excluded from the circulation. LAMSON in his various papers frequently gives results of experiments with the hepatic artery clamped, and these results are negative, in so far as changes in the red cell count are concerned. In our experiments, when the coeliac axis or the hepatic artery was clamped or when the liver was excluded from the circulation entirely by removal of the other abdominal organs and ligature of all structures at the hilus of the liver, we never failed to get polycythemia from epinephrine. We not only did not fail to get it, but it seemed to come on earlier than in the intact animals and to be of greater intensity, probably due to the exclusion of a large vascular area from the general circulation. Differences of technique in the counting of the blood will not explain the discrepancies. It is true that LAMSON withdrew the blood in his experiments with a syringe and ejected it into a receptacle from which it was drawn into the diluting pipette, while we took it directly into the pipette, but any errors that may have come in either method should have been consistent and would not explain the entirely different results.

In order to examine into some other causes which may have led to differences of interpretation, it may be best to discuss the last paper of LAMSON and ROCA a little further, as in it we might expect to find the final views of the writers which may, of course, have changed somewhat from the earlier views, as a result of more extended experimental data.

Question of liver volume changes.

The changes taking place in liver volume are of great importance in connection with the explanations which have been offered for the polycythemia. According to LAMSON's theory, it must swell. In the earlier paper by LAMSON, he quotes the work of BAINBRIDGE and TREVAN (15), published in 1917, to the effect that with epinephrine this organ does increase in volume. An examination of the paper quoted discloses several important facts. In the first place, the method of registering liver volume has been the subject of criticism. A balloon was placed between the liver lobes, and, as ERLANGER and GASSER (16) point out, the complete parallelism between liver volume and blood pressure curves make it incumbent upon BAINBRIDGE and TREVAN to prove that they actually did record volume changes. As a matter of fact, two years earlier (1915), EDMUNDS showed by the oncometer method that in the dog injections of epinephrine usually resulted in a constriction of the liver. In spite of this clear statement, EDMUNDS is quoted by BAINBRIDGE and TREVAN as having observed « swelling » of the liver after injection of epinephrine, although this was only constant after ligature of the hepatic artery. The quotation from EDMUNDS work by no means gives a correct representation of his views. LAMSON, in 1921, however, accepts the findings of BAINBRIDGE and TREVAN, although they were not in harmony with results previously obtained by exact methods, and also after the findings had been called in question by ERLANGER and GASSER in 1919. As a matter of fact, LAMSON should not have accepted the results of either BAINBRIDGE and TREVAN or of EDMUNDS, as neither set of experiments were carried out under the same conditions as were his own. EDMUNDS' results were obtained with small intravenous injections of epinephrine and are immediate effects, while LAMSON's need is for volume records of the liver when large doses of epinephrine (0.75 mg to 0.9 mg. per kilo) are given either subcutaneously or intravenously ; and these records should be taken half an hour to an hour after the drug had been given. Neither do the results of BAINBRIDGE and TREVAN supply the need, as their work also was carried out under different conditions. In the first place as to methods of administration of epinephrine, the records of their experiments show that either small doses were given intravenously or that slow intravenous injections of 0.04 per cent epinephrine were given. Neither results, therefore, could be carried over and be considered to apply to the effects of single large injections without adequate checking. Equally, or even more, important is the fact that BAINBRIDGE and TREVAN always gave atropine to their animals to paralyze the vagi and thus prevent the inhibitory phenomena so common in epinephrine action. This one fact, as EDMUNDS showed earlier, alters greatly the pressure in the vena cava and thereby the liver volume. By the use of atropine, the

muscular action of epinephrine on the heart is permitted, while the vagus slowing is removed, and no liver volume records taken in this way can be transferred to experiments with epinephrine in which atropine is not used.

Finally, LAMSON and ROCA, in order to show that the liver can take up fluid, had X-ray pictures taken of a dog to whose liver metal clips had been attached. 25 c.c. per kilo of an isotonic salt solution were then injected, with a result that a downward and lateral change of position took place, indicating an increase in volume of the liver. That may perhaps be so, but it has nothing whatever to do with the question as to what happens to the liver volume when 0.9 mg. of epinephrine per kilo is injected. Isotonic salt solution, as we know, leaves the circulation rapidly and may possibly swell the liver, but it proves nothing as to the condition under epinephrine.

To conclude, there is not one bit of experimental evidence today as to the volume changes in the liver of the dog ten minutes to one hour after epinephrine (without atropine) in a single dose has been given either intravenously or subcutaneously.

Some other points in the discussion and argument of LAMSON and ROCA require careful consideration in coming to a conclusion regarding the causes for the polycythemia produced by epinephrine; and it must be remembered that the explanation offered must account not only for the changes in blood count brought about by the intravenous injection of the drug, but also by its subcutaneous administration, a method which is equally efficient in the production of polycythemia.

On page 490 of the Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. XVII, it is said that if epinephrine be given in large doses, the « arterial pressure will be raised. » This is not always correct for its subcutaneous injection, where, as we have shown, 1 mg. per kilo can be given without essentially altering the pressure, but with the production of polycythemia.

It is said also that the « Portal pressure will be raised. » This has not been shown, so far as we know, for the subcutaneous use of the drug nor for its intravenous use under the conditions which are under discussion.

Regarding, now, vena cava pressure changes under epinephrine, SCHMID (17) is quoted as the authority for the statement that the vena cava pressure will « remain constant. » Reference to SCHMID's paper, however ,shows that he is not correctly quoted. On page 182 of the Arch. f. Physiol. Vol 126, SCHMID gives figures showing an increase in caval pressure under epinephrine from —5 to —2 mm. Hg. On the following page, he states that epinephrine (adrenalin) causes an increase in caval pressure and in his conclusions (page 195) he again states that the pressure in the vena cava rises under adrenalin.

It is evident that different factors will determine just what

change will be brought about in the pressure in the vena cava, whether it shall be a rise, a lowering or no change at all. BAINBRIDGE and TREVAN (loc. cit. page 461) showed that the pressure usually rose but occasionally it fell, but here again, it must be remembered that they preceded the use of epinephrine by atropin, which might entirely change the results, as stated above.

Caval pressure records are also pictured and discussed by EDMUNDS (loc. cit. pages 581-583). It was shown that the cava pressure might be raised considerably following a temporary fall, and that this rise was largely determined by the condition of the heart.

ERLANGER and GASSER, using again another method of epinephrine administration (6 to 11 c.c. of a 1-1000 solution given in from 21 to 29 minutes), found their results inconstant.

The discrepancies between different observations upon vena cava pressure, aside from those due to use or non-use of atropine, dosage and method of administration of the epinephrine, have been very largely explained by the careful work of HELENE CONNET (18) in her research upon the effect of this substance upon venous blood pressure. She discusses very fully the various factors which might be influenced by epinephrine to alter the venous pressure, and shows that while the usual effect is an increase, it is possible, owing to a certain balance established between these factors, to get no change at all in venous pressure from the drug, or it is possible to get a fall in pressure. The two factors chiefly responsible for the rise in the venous pressure are a decreased heart rate, seen best in dogs, and a vaso-constrictor mechanism in the veins — a factor which is prominent in cats.

From this brief discussion of the most recent papers upon the subject, it will be clearly seen that it is by no means universally accepted that as a result of epinephrine injection the vena « cava pressure will remain constant », Indeed, the reverse is more nearly correct.

Another interesting discrepancy is in the statement in regard to the increased flow of lymph from the thoracic duct which it is stated takes place «after a considerable latent period ». Here, YANAGAWA (19) is quoted as the authority. In his paper upon the secretion of lymph, however, YANAGAWA (85) says that he found in all experiments the lymph flow was increased « very promptly and considerably ». In fact, he says it was augmented during the injection, so that the changes in flow appeared to result directly from the arterial pressure changes. BAINBRIDGE and TREVAN (loc. cit. page 463) also say that the increased flow of lymph begins « very shortly after the injection », of adrenalin is started.

Finally, LAMSON and ROCA state as an important part of their argument that « epinephrine causes no obstruction to the blood flow in the rabbit's liver ». This is a fact of the first importance, but appar-

ently the statement is made without any examination of the matter, merely relying upon the statement of MAUTNER and PICK, who, in the paper referred to, give no details as to the experiments which they carried out to establish this fact.

Examination of the matter in this laboratory, however, shows that the hepatic vein of the rabbit contracts to epinephrine ; that perfusion of the organ through the portal vein results in a definite constriction when epinephrine is added to the perfusion fluid ; that liver volume changes and portal blood pressure changes following epinephrine administration are much the same as in the dog and cat. In other words, the work in this laboratory, in so far as it has progressed, has demonstrated that, in its reaction to epinephrine, the liver of the rabbit does not differ essentially from that of the dog or of the cat.

LAMSON and ROCA finally conclude from their evidence that obstruction to the blood flow in the liver must occur on the distal side of the hepatic capillaries, therefore in the hepatic veins, a conclusion to which EDMUNDS came six years earlier (loc. cit. page 589).

Considerable time and space has been devoted to the discussion of the points of difference between our results and those of LAMSON and his co-workers. Some of these differences are upon points of scientific fact and plain experimental results, for which we can give no explanation. Other points of difference are due to the fact that they have taken certain data from previous writers, data which was obtained under entirely different conditions, and have used it in an attempt to explain their results. For errors in references to earlier literature, no explanation can be given. It should be stated that our research was begun with no idea of criticizing the results of LAMSON, but as part of the general problem of some phases of liver activity, upon which work has been carried out in this laboratory for many years. The later trend of the work was inevitable.

CONCLUSIONS.

The increase in the numbers of the red cells and of the leucocytes in dogs following the injection of epinephrine in large doses is due to an action exerted on the periphery, and it can be produced when the liver is excluded from the circulation. The suggestion is made that it is probably due to an action upon the blood forming organs — lymphoid tissue and bone marrow. Experiments are in progress in an endeavour to ascertain whether such an action on the blood forming organs is present, and, if so, whether all the changes can be explained in this way or whether concentration of the blood may not also play a part.

The failure of the rabbit to react to epinephrine with polycythemia is apparently not due to any failure of its hepatic vein to contract

under the influence of epinephrine, but to some other factor not yet explained. The liver of the rabbit reacts to epinephrine, in so far as volume changes and portal blood pressure are concerned in a manner essentially like the liver of the dog and the cat.

BIBLIOGRAPHY.

1. KAGI. — *Folia Haematol.*, 1920, XXV, 107.
2. FREY. — *Zeit. f. d. ges. Med.*, 1913, II, 38.
3. FREY and LURY. — *Ibid.* pg. 50.
4. WALTERHÖFER. — *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* 1921, CXXXV, 208.
5. DANUL and POPPER. — *Annales de Médecine*, 1921, X, 395.
6. SCHENK. — *Wien. med. Klin.*, 1920, XVI, 283.
7. BILLIGHEIMER. — *Deutsch. Arch. f. Klin. Med.* 1921, CXXXVI, 1.
8. BOSTROM. — *Am. Jour. Physiol.*, 1921, LVIII, 195.
9. SCOTT. — *Am. Jour. Physiol.*, 1917, XLIV, 298.
10. SANGUINETTI. — *Policlin. Roma.*, 1921, XXVIII, sez.med., 97
11. LAMSON. — *J. Pharm. and Exp. Therap.*, 1921, XVII, 483.
12. MAUTNER and PICK. — *Munch. med. Wochen.*, 1915, s. 1141.
13. AREY and SIMONDS. — *Anat. Record* 1920, XVIII, 219.
14. EDMUNDS. — *Jour. Pharm. and Exp. Therap.*, 1915, VI, 569.
15. BAINBRIDGE and TREVIN. — *Jour. Physiol.*, 1917, LI, 460.
16. ERLANGER and GASSER. — *Am. Jour. Physiol.*, 1919, XLIX, 363.
17. SCHMID. — *Arch. f. Physiol.*, 1909, CXXVI, 182.
18. CONNET. — *Am. Jour. Physiol.*, 1920, LIV, 96.
19. YANAGAWA. — *Jour. Pharm. and Exp. Therap.*, 1916, IX, 75.

INSTITUT DE THÉRAPEUTIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES.
DIRECTEUR : PROF. E. ZUNZ.

A propos de la tension superficielle des amers

PAR

JEAN LA BARRE.

TRAUBE et BLUMENTHAL (1) ont attribué une grande importance au rôle que joue la tension superficielle en biologie et en pathologie. Ils ont émis l'idée que ce facteur interviendrait dans l'action de divers médicaments tels que les amers, les antipyrétiques, les anesthésiques, les diurétiques.

En 1906, LIPPENS (2) a étudié, en se servant du stalagmomètre de TRAUBE, la tension superficielle de différents amers utilisés en thérapeutique et de leurs principes actifs. Il a constaté que l'augmentation du nombre de gouttes, comptées en se servant de cet appareil; est insignifiante pour la plupart des amers. Les infusions des différents quinquinas et du colombo lui ont donné une augmentation un peu plus marquée du nombre de gouttes. Seule l'infusion de houblon a accusé un abaissement notable de la tension superficielle de l'eau.

Le nombre de gouttes a augmenté dans une certaine mesure avec la concentration du liquide. L'influence de ce facteur ne s'est guère fait sentir pour l'infusion de condurango ; elle a été très faible pour les infusions de gentiane et de quassia ; elle s'est montrée un peu plus notable pour les infusions de colombo, de quinquina rouge, de quinquina jaune et d'absinthe ; elle est devenue très nette pour les infusions de quinquina gris et de camomille et a surtout été considérable pour l'infusion de houblon.

(1) TRAUBE et BLUMENTHAL. Der Oberflächendruck und seine Bedeutung in der klinischen Medizin — *Zeits. fü rexper. Pathologie und Therapie*, 1905, t. II, pages 117 à 132.

(2) LIPPENS, A. Recherches stalagmométriques sur les amers. — *Bulletin de la Société Royale des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, 1906, n° 4, pages 126 à 138.

D'après LIPPENS, le lupulin n'amène, pas plus que les autres principes actifs contenus dans les amers, d'augmentation du nombre de gouttes au stalagmomètre. L'abaissement constaté pour l'infusion de houblon ne paraît donc pas provenir des substances amères qu'elle contient mais bien plutôt d'autres corps.

LIPPENS conclut que la tension superficielle, étudiée suivant la méthode stalagmométrique de TRAUBE, ne semble pas jouer dans le mode d'action des amers le rôle important que veulent lui attribuer TRAUBE et BLUMENTHAL.

Il nous a paru intéressant de reprendre l'étude des variations de la tension superficielle des principaux amers en tenant compte de la densité des différents liquides étudiés et en employant un appareil plus précis que le stalagmomètre.

La méthode de TRAUBE, simple et d'une technique très commode, a des inconvénients sérieux (remplissage malaisé, grande quantité de liquide nécessaire) et néglige des facteurs importants. On peut surtout lui reprocher de ne pas tenir compte de l'évaporation du liquide étudié, point dont KOPACZEWSKI (1) a montré toute l'importance ; en effet, la goutte, et se forme à l'air libre, ce qui pour des substances aussi volatiles que l'alcool entraîne des causes d'erreurs considérables.

Ensuite, pour augmenter la surface d'arrachement de la goutte et éviter l'ascension du liquide le long du bord extérieur de l'orifice, TRAUBE a fortement élargi l'extrémité inférieure du tube capillaire. Il en résulte qu'une goutte ne tombe jamais entière et qu'il reste toujours une certaine quantité de liquide appendue à la surface de déchirement. Cette quantité est en rapport avec la surface de détachement et avec la tension superficielle, ainsi que TRAUBE l'a du reste déjà signalé.

Le tonomètre de KOPACZEWSKI évite divers de ces inconvénients. Aussi avons nous recouru à cette méthode pour mesurer la tension superficielle des amers. Nous avons eu soin de maintenir a l'intérieur du manchon une pression constante (2) et une température de 15 degrés centigrades (3).

GUYE et PERROT (4) ont nettement établi qu'en doit tenir compte du nombre de gouttes et du temps de formation d'une goutte pour

---

(1) W. KOPACZEWSKI. *Théorie et pratique des colloïdes en biologie et en médecine*, pp. 98 à 116.

(2) Au moyen du système utilisé dans le viscosimètre de Scarpa.

(3) En plongeant le tonomètre dans un thermostat.

(4) GUYE et PERROT. *Archives des Sciences Physiques et Naturelles*, 1901, 4[e] série vol. 11, p. 1 et 1903 vol. 15, p. 132.

calculer la tension superficielle dans les procédés basés sur le poids de la goutte suspendue à une surface libre d'arrachement. Nous avons donc, comme l'a proposé KOPACZEWSKI (1), employé la formule classique de TATE (2) corrigée en tenant compte des travaux de GUYE et PERROT.

$$\alpha = K. \frac{d'}{N'} (1 + \beta) + \gamma$$

β représente le rapport $\frac{N'}{N}$ du nombre de gouttes du liquide examiné au liquide type et γ le rapport $\frac{T'}{T}$ de la durée de formation d'une goutte du liquide examiné à la durée de formation d'une goutte du liquide type.

Nous avons d'abord étudié la tension superficielle des différentes infusions d'amers habituellement utilisés en thérapeutique. (Tableau 1.) Ces infusions ont été préparées de la façon indiquée par la pharmacopée, c'est-à-dire en maintenant les plantes pendant 15 à 20 minutes à une température voisine de l'ébullition (98 à 99°).

Ces chiffres ont été calculés en admettant avec LANDOLT-BÖRNSTEIN (3) 73,26 dynes comme tension superficielle de l'eau à 15° centigrades.

---

(1) W. KOPACZEWSKI. *Théorie et pratique des colloïdes en biologie et en médecine*, pp. 98 à 116.

(2) TATE. *Phil. Mag.* (4) 1868, vol. 27, p. 176.

Voici la formule classique de TATE : $\alpha = \frac{Nd'}{N'd}$.

Dans cette formule α représente la tension superficielle, N et D le nombre de gouttes et la densité du liquide type (eau, alcool...) N' et D' le nombre de gouttes et la densité du liquide examiné. En posant $\frac{N}{D} = K$, on obtient une constante K qui peut être déterminée à l'aide de diverses méthodes.

(3) LANDOLT-BÖRNSTEIN. *Physiologisch chemische Tabellen*, 3e édition, Berlin 1905, p. 102.

TABLEAU I.

NUMÉRATIONS TONOMÉTRIQUES DES AMERS.

Classes	Espèces.	Titrage des infusions	Tension superficielle en dynes/cm à 15° C.	Différence entre la tens. superficielle de l'eau et celle du liquide examiné.
Amers francs.	Bois de quassia.	5 °/°°	73.37	+ 0.11 dyne
		10 °/°°	72.12	— 1.14
	Racines de gentiane	5 °/°°	71.01	— 2.23
		10 °/°°	69.28	— 3.98
	Racines de colombo	5 °/°°	71.27	— 1.99
		10 °/°°	69.64	— 3.62
Amers Astringents	Ecorces quinquina gris	5 °/°°	72.98	— 0.28
		10 °/°°	72.03	— 1.23
	Ecorces quinquina rouge	5 °/°°	72.52	— 0.64
		10 °/°°	70.96	— 2.30
	Ecorces quinquina jaune	5 °/°°	71.74	— 1.52
		10 °/°°	68.05	— 5.21
	Ecorces de condurango.	5 °/°°	70.86	— 2.40
		10 °/°°	69.81	— 3.45
Amers aromatiques	Cones de houblon	5 °/°°	64.16	— 9.10
		10 °/°°	60.29	—12.97
		15 °/°°	54.76	—18.50
		20 °/°°	52.48	—20.78
	Herbes d'absinthe	1 °/°°	69.79	— 3.47
		5 °/°°	65.18	— 8.08
		10 °/°°	60.68	—12.58
	Fleurs de camomille	5 °/°°	69.43	— 3.83
		10 °/°°	65.35	— 7.91

D'une façon générale, ces résultats ne diffèrent pas sensiblement de ceux observés par LIPPENS.

Les infusions à 5‰ des amers francs n'ont pas amené d'abaissement notable de la tension superficielle ; les infusions à 10‰ des racines de gentiane et de colombo ont abaissé la tension superficielle de 4 dynes environ, le bois de quassia d'une dyne.

La tension superficielle n'a pas subi de diminution plus marquée pour les amers astringents. Il y a lieu de signaler que les diverses écorces de quinquina n'ont pas donné des résultats identiques. Des infusions à 5‰ de ces amers, seul le quinquina jaune a produit un abaissement d'1,5 dyne. Parmi les infusions à 10‰, les diminutions des tensions superficielles sont de plus en plus marquées pour les quinquinas gris, rouge et jaune. L'écorce de condurango a donné des résultats analogues à ceux du quinquina jaune.

Si les amers francs et astringents n'ont pas modifié notablement la tension superficielle, il n'en est pas de même pour les amers aromatiques. Ici, on observe avec les infusions à 5‰, un abaissement de 9 dynes pour le houblon, de 8 dynes pour l'absinthe et de 4 dynes pour la camomille. Si l'on augmente la concentration des infusions jusqu'à 10‰, on constate un abaissement de 13 dynes environ pour le houblon et l'absinthe, de 8 dynes pour la camomille. En accroissant davantage le titre de l'infusion, la tension superficielle continue à diminuer et cet abaissement peut atteindre 20 dynes pour l'infusion de houblon à 20‰. Mais il y a lieu de remarquer qu'on ne dépasse, d'ordinaire, pas en pratique les infusions à 10‰.

Nous avons ensuite examiné la tension superficielle de quelques principes actifs des amers étudiés. Le tableau II renseigne les chiffres obtenus en employant les principes actifs solubles dans l'eau. Le tableau III mentionne la tension superficielle des principes actifs solubles dans l'alcool à 20% comparée naturellement à celle du véhicule (alcool à 20%).

TABLEAU II.

NUMÉRATIONS TONOMÉTRIQUES DES PRINCIPES ACTIFS (DES AMERS) SOLUBLES DANS L'EAU.

	Tension superficielle en dynes/cm à 15°C.	Différence entre la tens. superficielle de l'eau et celle du liquide examiné.
Chlorhydrate de quinine à 1 %	64.12	— 9.14
Chlorhydrate de quinine à 1 °/°°	70.56	— 2.70
Sulfate de quinine à 1 °/°°	71.51	— 1.65

TABLEAU III.

NUMÉRATIONS TONOMÉTRIQUES DES PRINCIPES ACTIFS (DES AMERS) SOLUBLES DANS L'ALCOOL A 20 %.

	Tension superficielle en dynes/cm à 15°C	Différence entre la tens. superficielle de l'eau et celle de la solution examinée
Alcool à 20 %	41.05	
Lupulin 1 °/°°	40.72	— 0.33
Absinthe 1 °/°°	40.14	— 0.91
Quassine amorphe 1 °/°° . . .	40.25	— 0.80

Ainsi que le montre le tableau II, les solutions aqueuses à 1‰ de chlorhydrate et de sulfate de quinine n'ont abaissé que de 1 à 3 dynes la tension superficielle de l'eau. Des solutions plus concentrées provoquent une diminution plus notable de cette tension (9 dynes pour le chlorhydrate de quinine à 1%). Il se peut donc que la quinine et d'autres alcaloides du quinquina interviennent dans l'abaissement de la tension superficielle produit par les infusions à 10% de quinquina, bien que la teneur en quinine de ces infusions soit certes inférieure à 1‰ de cet alcaloïde.

Dans le tableau III, nous avons comparé les tensions superficielles de divers principes actifs solubles dans l'alcool à 20% à celle de ce véhicule. Ces principes actifs n'ont pas sensiblement diminué (toujours moins d'une dyne) la tension superficielle de l'alcool. Aussi est-il probable que d'autres substances que le lupulin doivent intervenir dans l'abaissement considérable constaté pour les infusions de houblon.

En résumé, dans l'action des amers aromatiques la diminution de la tension superficielle doit être prise en considération, sans que nous puissions pour le moment établir une corrélation entre cette diminution et celle produite par les différents principes actifs que nous avons examinés. L'abaissement relativement modéré de la tension superficielle des amers francs et astringents ne semble pas suffisant pour expliquer les propriétés pharmacologiques de ces médicaments. Ces résultats ne paraissent pas confirmer complètement les idées émises par TRAUBE et BLUMENTHAL, selon lesquelles l'action thérapeutique des différents amers serait principalement due à des modifications de la tension superficielle.

LABORATOIRE DE THÉRAPEUTIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES
DIRECTEUR : PROFESSEUR E. ZUNZ.

Action des chlorhydrates de cryptopine et de xanthaline sur le cœur isolé de la grenouille et de la tortue

PAR

JEAN LA BARRE.

I. Introduction.

En se basant sur ses propriétés nettement paralysantes et dépressives, et bien que la formule de cet alcaloïde de l'opium ne soit pas encore clairement établie, on range habituellement la cryptopine parmi les dérivés de la benzylisoquinoline.

Dès 1869, la cryptopine a été l'objet de recherches de la part des physiologistes et John HARLEY (1) avait déjà observé que ce corps jouissait, comme la morphine, de fonctions hypnotiques. Il remarqua que cet alcaloïde a, sur l'appareil respiratoire, une légère action stimulante qui devient dépressive si l'on accroît les doses. Il pensait que les troubles cardiaques que l'on constate après l'administration de ce produit, sont très probablement subordonnés aux désordres respiratoires.

D. E. JACKSON (2) a conclu que les injections intraveineuses de petites doses de cryptopine ne produisent aucune modification bronchioconstrictive sur l'appareil pulmonaire du chien.

David I. MACHT (3) s'est aperçu dans des expériences faites sur l'uretère du lapin « in situ » que la cryptopine amène une diminution marquée du tonus ainsi qu'un arrêt rapide des contractions rythmiques de cet organe.

La xanthaline fait partie des alcaloïdes de l'opium dont la constitution chimique n'est pas encore connue, aussi serait-il prématuré de vouloir rattacher ce corps aux dérivés de la benzylisoquinoline. Pourtant les expériences récentes que nous avons faites sur l'intestin isolé du lapin nous incitent à croire que, par ses propriétés paralysantes énergiques, la xanthaline doit être rapprochée au point de vue pharmacodynamique du groupe de la papavérine.

Nous avons constaté que des doses relativement faibles de chlor-

hydrate de cryptopine ou de chlorhydrate de xanthaline (10 à 15 milligrammes par kilog. d'animal en injection sous-cutanée) pouvaient amener une mort rapide (en 15 à 30 minutes) chez le lapin et, dès lors nous nous sommes demandé si ces deux corps ne constitueraient pas des poisons énergiques pour le muscle cardiaque.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons étudié l'action produite par différentes doses de chlorhydrate de cryptopine et de chlorhydrate de xanthaline sur le cœur isolé de la grenouille et de la tortue.

II. Technique.

Nous avons employé la méthode de STRAUB (4) dans les expériences sur le cœur isolé de grenouille. Une longue canule de verre est introduite par l'aorte jusque dans la cavité ventriculaire. Les vaisseaux restants sont liés en bloc et sectionnés au-delà de la ligature. Le cœur est plusieurs fois lavé intérieurement à l'aide de liquide de RINGER, puis placé dans une chambre humide où se fait un dégagement permanent d'oxygène.

Dans les essais pratiqués sur le cœur isolé de tortue, comme nous désirions enregistrer séparément les mouvements des oreillettes et du ventricule, nous avons apporté une légère modification à l'appareil de STRAUB. Le cœur isolé est placé dans une chambre de verre dans laquelle on a foré un orifice latéral. Par cet orifice passe un fil de soie qui s'attache d'une part à la partie la plus déployée de l'oreillette, d'autre part au stylet inscripteur. En dehors de la chambre humide, nous interposons sur le trajet du fil une poulie de réflexion en aluminium grâce à laquelle la traction sur le stylet s'opère suivant une direction verticale (*).

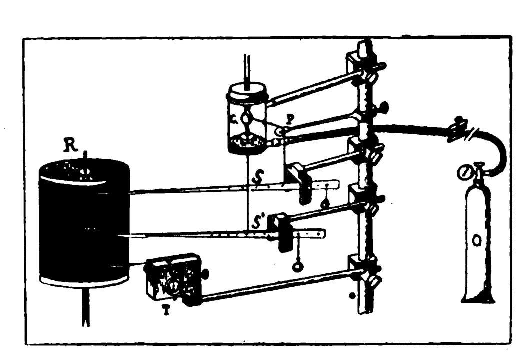


Figure I. — R : rouleau enregistreur; C : chambre humide; P : poulie de réflexion; S : stylet inscripteur de l'oreillette ; S' : stylet inscripteur du ventricule ; T : chronomètre graphique de Jaquet ; O : Bombonne d'oxygène.

Les chlorhydrates de cryptopine et de xanthaline étant beaucoup moins solubles dans le liquide de RINGER que le chlorhydrate de mor-

(*) Rappelons que C. HEYMANS (5) a déjà, dans ses recherches sur l'arécoline, enregistré séparément au moyen d'un levier double les contractions auriculaires et ventriculaires du cœur de grenouille selon la technique d'AMSLER, KOLM et PICK (6).

phine, nous avons été obligé pour obtenir une dissolution parfaite de porter ces corps au bain-marie à une température de 60 degrés environ.

Les différentes doses d'alcaloïdes sont introduites directement dans le ventricule à l'aide d'une longue pipette de verre.

III. **Résultats.**

Les résultats que nous avons obtenus après de nombreuses applications de chlorhydrate de cryptopine et de chlorhydrate de xanthaline sur le cœur de grenouille et de tortue sont relatés brièvement. Nous reproduisons ici quelques tracés facilitant la compréhension du texte.

1° Action du chlorhydrate de cryptopine.

a) *Sur le cœur de grenouille.*

Lorsque le liquide de Ringer contient 1:200.000 de chlorhydrate de cryptopine, on constate parfois une diminution notable dans le tonus, la fréquence et l'amplitude des mouvements ventriculaires (figure II, tracés a et b). Les oreillettes conservent pourtant une activité contractile normale. Si on lave le cœur à l'aide de liquide de Ringer neuf, le ventricule reprend progressivement son état habituel (figure II, tracés c et d.).

Sous l'influence d'une concentration variant entre 1:20.000 et 1:10.000 de cet alcaloïde, on observe un arrêt lent ou immédiat du cœur. Dans l'expérience à laquelle se rapporte la figure III, l'arrêt du ventricule s'est produit après trois minutes, celui des oreillettes après sept minutes. Habituellement, même après plusieurs lavages au liquide de Ringer neuf, l'arrêt du cœur est définitif.

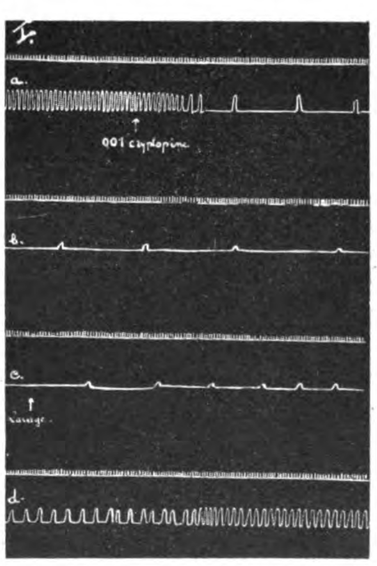


Figure II. — Tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de grenouille d'une solution de Ringer contenant 1:200.000 de chlorhydrate de cryptopine.

Temps indiqué toutes les secondes.

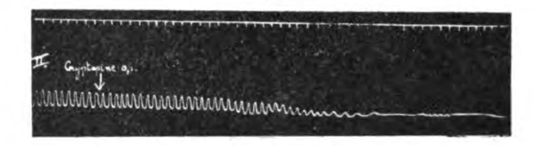


Figure III. — Tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de grenouille d'une solution de Ringer contenant 1:20.000 de chlorhydrate de cryptopine.
Temps indiqué toutes les 6 secondes.

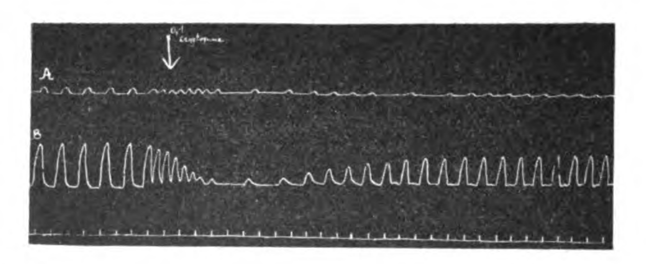
b) *Sur le cœur de tortue.*

Les résultats de plusieurs applications de chlorhydrate de cryptopine à différentes concentrations (1:300.000 à 1:6000) montre nettement l'action déprimante de cet alcaloïde.

L'inscription séparée des tracés auriculaire et ventriculaire nous ont permis de figurer le fait constaté « de visu » pour le cœur de grenouille, à savoir que le poison empêche beaucoup plus rapidement le travail du ventricule que celui de l'oreillette.

La concentration de 1:60.000 ne produit qu'une légère diminution de l'amplitude du ventricule.

1:30.000 provoque une diminution transitoire du tonus et de l'amplitude et parfois une légère accélération des mouvements cardiaques (figure IV) ; 1:15.000 donne après quelques minutes des tracés



Figures IV. — En A tracé auriculaire, en B tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de tortue d'une solution de Ringer contenant 1:30.000 de chlorhydrate de cryptopine.
Temps indiqué toutes les 6 secondes.

auriculaire et ventriculaire fort irréguliers avec une diminution du tonus et de l'amplitude (figure V.).

1:12.000 arrête immédiatement les battements du ventricule, et diminue tant en amplitude qu'en fréquence les mouvements des oreillettes (figure VI).

1:6000 interrompt instantanément tout travail cardiaque ; même

après plusieurs lavages au liquide de Ringer neuf, plus aucune activité contractile ne se manifeste.

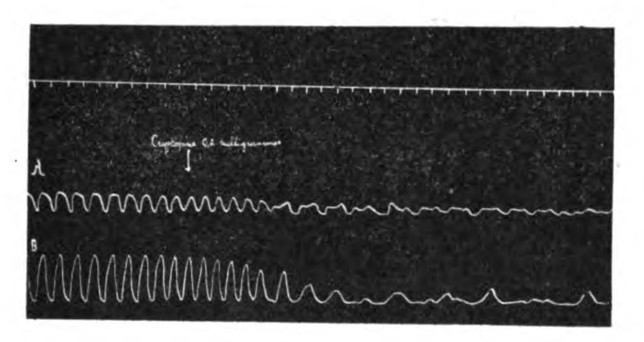


Figure V. — En A tracé auriculaire, en B tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de tortue d'une solution de Ringer contenant 1:15.000 de chlorhydrate de cryptopine.
Temps indiqué toutes les 6 secondes.

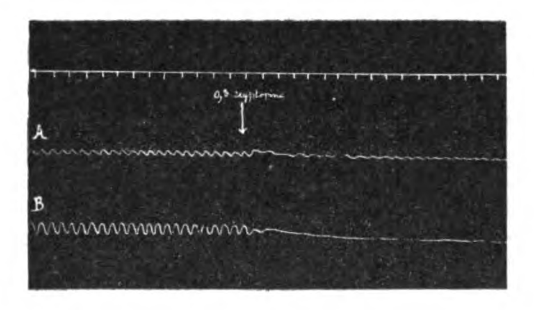


Figure VI. — En A tracé auriculaire, en B tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de tortue d'une solution de Ringer contenant 1:12.000 de chlorhydrate de cryptopine.
Temps indiqué toutes les 6 secondes.

2° Action du chlorhydrate de xanthaline.

a) *Sur le cœur de grenouille.*

Aucune modification dans le rythme et l'amplitude des mouvements cardiaques ne se produit lorsqu'on irrigue le cœur avec du liquide de Ringer contenant 1:200.000 de chlorhydrate de xanthaline.

La dose de 1:80.000 donne une légère dépression ventriculaire. Les applications de solutions plus concentrées que 1:40.000 ont provoqué en une à deux minutes l'arrêt complet et définitif du cœur (fig. VII).

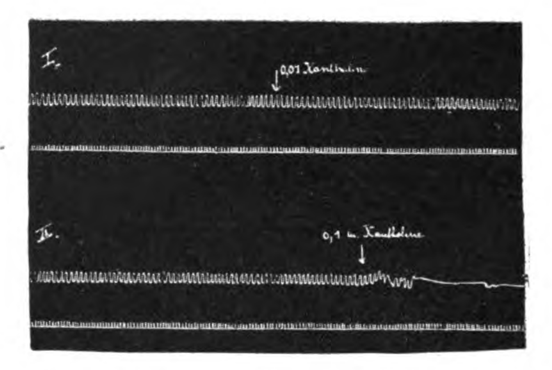


Figure VII. — En I tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de grenouille d'une solution de Ringer contenant 1:200.000 de chlorhydrate de xanthaline. En II tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de grenouille d'une solution de Ringer contenant 1:40.000 de chlorhydrate de xanthaline. Temps indiqué toutes les secondes.

b) *Sur le cœur de tortue.*

Cet alcaloïde n'a pas d'action dépressive à la concentration de 1:300.000. Le tracé de la figure VIII, obtenu en réglant le kymographe à grande vitesse, nous montre clairement qu'à cette dose minime les tracés auriculaire et ventriculaire ne sont pas modifiés. Nous voyons nettement que la contraction auriculaire *a* est suivie, comme à l'état normal d'une légère ondulation *b* produite par le choc en retour de l'onde sanguine lors de la contraction ventriculaire *b'* (figure VIII).

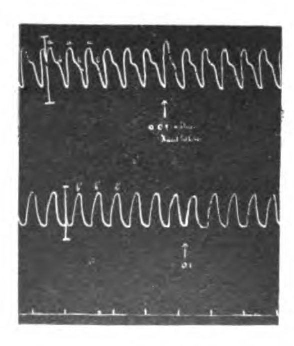


Fig. 8.

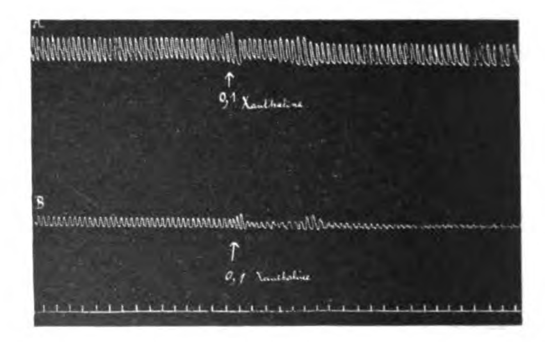


Fig. 9.

Figure VIII. — Tracés auriculaire et ventriculaire pendant l'action sur le cœur de tortue d'une solution de Ringer contenant 1:300.000 de chlorhydrate de xanthaline.

Temps indiqué toutes les 6 secondes.

Figure IX. — En A tracé auriculaire, en B tracé ventriculaire pendant l'action sur le cœur de tortue d'une solution de Ringer contenant 1:30.000 de chlorhydrate de xanthaline.

Temps indiqué toutes les 6 secondes.

La dose de 1:30.000 de chlorhydrate de xanthaline a provoqué une diminution marquée du tonus et de l'amplitude des contractions ventriculaires, sans changement du rythme. Le travail des oreillettes n'a pas été modifié pendant cette application (figure IX).

1:6000 de chlorhydrate de xanthaline a interrompu immédiatement le travail du cœur. Plusieurs lavages au liquide de RINGER n'ont pu rendre à cet organe sa vitalité.

IV. Conclusions.

1. Les chlorhydrates de cryptopine et de xanthaline produisent, dèjà à faibles doses (tableau ci-dessous), une action dépressive marquée sur le muscle cardiaque.

2. Comme on l'a constaté pour la muscarine, (7), l'acétylcholine et d'autres corps de ce même groupe pharmacologique, les chlorhydrates de cryptopine et de xanthaline ont un effet plus rapide sur le ventricule que sur les oreillettes.

On peut rapprocher ce résultat des observations d AMSLER et PICK (8) sur l'arrêt du cœur de grenouille maintenu à 38°. Ces auteurs ont, en effet, noté dans leurs expériences, l'arrêt du ventricule, alors que les sinus-oreillettes continuent à battre.

3. Lorsqu'on atteint la concentration mortelle, on remarque l'arrêt du cœur en diastole.

Alcaloïde additionné au liquide de Ringer irrigant le cœur	Espèce d'animal en expérience	Concentration minima des solutions d'alcaloïde produisant :				
		une dépression ventriculaire	un arrèt non définitif du ventricule	une dépression auriculaire	un arrêt non définitif de l'oreillette	un arrêt définitif du cœur en diastole
Chlorhydrate de cryptopine	Grenouille	1:200.000	1:200.000		1:20.000	1:10.000
	Tortue	1:60.000	1:30.000	1:15.000 à 1:12.000	1:12.000	1:6000
Chlorhydrate de xanthaline	Grenouille	1:80.000				1:40.000
	Tortue	1:100.000 à 1:30.000				1:6000

Les accidents mortels constatés chez les lapins injectés par de faibles doses de chlorhydrate de cryptopine ou de chlorhydrate de

xanthaline doivent peut-être s'expliquer dans une certaine mesure par une intoxication rapide du muscle cardiaque. Il est donc probable que les troubles produits par l'injection de cryptopine résultent, tout au moins en partie, d'empoisonnement du cœur et ne sont pas, comme le pensait HARLEY, uniquement subordonnés à des désordres respiratoires.

Ces expériences nous permettent également, de rapprocher, au point de vue pharmacodynamique, la cryptopine et la xanthaline des alcaloïdes du groupe de la benzylisoquinoline puisqu'elles ont sur le cœur isolé de la grenouille et de la tortue une action identique à celle observée par HANZLIK (9) pour la papavérine et pour la narcotine.

Bibliographie.

1. J. HARLEY — *Action physiologique de la cryptopine*, cité d'après le traité « Alcaloïdes » de DUPUY, 1887, Tome I, page 478.

2. D. E. JACKSON. — A note on the pharmacological action of opium alkaloids. *Journal of pharmacol. and experim. ther.*, 1914, Volume VI, n° 1, pages 57 à 72.

3. DAVID I. MACHT. — On the pharmacology of the ureter. III. Action of opium alkaloids. *Journal of pharmacol. and exper. therap.*, 1916, vol IX, pages 197 à 216.

4. W. STRAUB. — Cité d'après H. FÜHNER. Leipzig. *Nachweis und Bestimmung der Gifte auf pharmakologischem Wege.* Berlin und Wien, 1922, p. 587 à 588.

5. C. HEYMANS. — Action de l'arécoline sur les sinus-oreillettes et le ventricule du cœur de grenouille. *C. R. Soc. Biol.* 1922, Tome LXXXVII, pages 1062 à 1064

6. C. AMSLER. — Einfache Vorhof und Kammerregistrierung am isolierten Froschherzen. *Schweiz-Med-Woche*, 1920, t. L, pp. 997-998.— R. KOLM und E. PICK. — Ueber die Bedeutung des Kaliums für die Selbststeuerung des Herzens. *Ach. f. d. ges. Physiol.*, 1920, Vol. CLXXXV, pp. 235-247.

7. V. BRABANT. — Étude chimique et physiologique de la muscarine et de quelques uns de ses dérivés. *Arch. intern. de pharmacodyn. et de thérapie*, 1921, Vol. XXV, pages 296 à 320.

8. C. AMSLER und E. P. PICK. — Zur Pharmakologie der Wärmenarkose des Kaltblüterherzens. *Arch. f. exper. Pathol. und Pharmakol.*, 1919, Tome LXXXIV, pp. 52 à 65.

9. P. J. HANZLIK. — Comparative effects of morphine and alkaloids of the benzylisoquinolin group on cardiac muscle. *Journal of Pharmacol. and exper. Ther.*, 1921, Vol. XVII, n° 6, p. 445 à 471.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE PHARMACOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE VIENNE. — PROF.: H. H. MEYER.

Démonstration biologique de la fixation des cations par les globules rouges du lapin

PAR

C. HEYMANS.

Les travaux portant sur l'étude de la perméabilité des globules rouges sont nombreux. A la suite des recherches de HAMBURGER (1), HEDIN (2), SIEBECK (3), CREVELD (4), RICHARD (5), SNAPPER (6) et WIECHMANN (7), on admet généralement que les anions, et plus particulièrement l'ion Cl, pénètrent dans les globules rouges. En ce qui concerne la pénétration des cations, les résultats et les avis sont contradictoires ; tandis que GIRARD (8), CALUGAREAU (10), RICHTER-QUITTNER (10) et particulièrement HAMBURGER (11) et ses élèves concluent à l'échange des cations entre les globules rouges et le milieu environnant, cette perméabilité globulaire aux cations est par contre niée par d'autres auteurs, tels HÖBER (12) et BAYLISS (13), qui considèrent les érythrocytes comme des cellules exclusivement perméables à l'eau et non aux sels.

Cette question n'étant pas tranchée, il nous a paru, à E. PICK (14) et à moi, intéressant de contribuer à cette étude en nous servant non pas des méthodes habituelles d'analyse physique ou chimique, mais d'une méthode biologique c'est-à-dire du cœur de grenouille.

Nos recherches se basent sur le fait suivant : le cœur de grenouille réagit d'une manière caractéristique aux ions Ca et K qu'on ajoute en excès au Ringer nourricier ; prenons donc une solution, titrée et appropriée, d'un sel de calcium ou de potassium et comparons son action sur le cœur avec celle d'une autre partie de cette même solution qui se trouve ou s'est trouvée en contact avec des globules rouges. Cette dernière solution doit se montrer moins active sur le cœur de grenouille si les érythrocytes ont fixé des ions de calcium ou de potassium. TRENDELENBURG et BAYER ont de même employé le cœur de grenouille comme réactif biologique pour déceler un déficit de calcium dans le sérum des animaux parathyroïdectomisés ou intoxiqués par la guanidine.

Technique.

Le cœur isolé de grenouille (Rana Esculenta) est suspendu d'après la méthode de STRAUB ; c'est-à-dire une canule en entonnoir est introduite par l'aorte dans le ventricule, les vaisseaux caves et pulmonaires sont ligaturés ; le liquide de Ringer oxygéné contenu dans l'entonnoir de la canule (3 cc.) nourrit le cœur. Les contractions du ventricule et de l'oreillette sont inscrites séparément au moyen du levier double d'ENGELMANN, avec petit levier latéral pour enregistrer l'oreillette d'après la méthode d'AMSLER, KOLM et PICK.

1° *Influence des érythrocytes sur l'action du calcium.*

L'action du calcium et du potassium sur le cœur de grenouille a été décrite surtout par CLARCK (15), BURRIDGE (16), LOEWI (17) et plus particulièrement par KOLM et PICK (18) qui ont mis en évidence l'action différente du Ca et du K sur l'oreillette et le ventricule. Si nous additionnons au liquide de Ringer contenu dans la canule de STRAUB, une quantité déterminée d'une solution de $CaCl^2$ en contact avec des globules rouges de lapin, obtenus par centrifugation de sang défibriné, on observe que l'action tonique contracturante du calcium sur le ventricule est bien plus faible (fig. 1-b) que dans l'expérience contrôle en absence d'érythrocytes (fig. 1-a). D'autre part, lorsqu'on

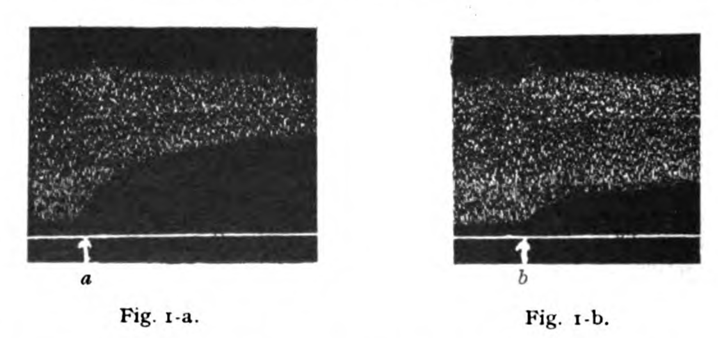


Fig. 1-a. Fig. 1-b.

Fig. 1. — Cœur d'Esculenta, en *a* : addition de 0,12 cc, $CaCl^2$ 1 °/₀ au RINGER de la canule de STRAUB. Après des lavages répétés avec du RINGER pur, on additionne en *b*, 0,24 cc. d'un mélange à parties égales de Ca Cl^2 1 °/₀ et de globules rouges de lapin. La réaction du cœur montre que cette dernière solution renferme moins de Ca actif.

remplace le Ringer normal par du Ringer sans calcium, le cœur présente aussitôt l'arrêt diastolique ventriculaire par l'action inotropique négative du K non compensé (fig. 2-*a*) ; mais il suffit d'ajouter 0,07 cc. d'une solution de Ca Cl^2 $^1/_{500}$ pour que le cœur reprenne son rythme normal; (fig. 2-*b*) par contre, l'addition de 0,07 cc. d'une solution qui a été en contact avec des globules rouges pendant un quart d'heure, puis séparée par centrifugation (fig. 2-*d*) possède une action bien plus faible.

Ces deux expériences prouvent que les globules rouges ne sont pas

inertes vis-à-vis de la solution de Ca Cl^2, mais qu'ils lui enlèvent et fixent une partie du calcium actif.

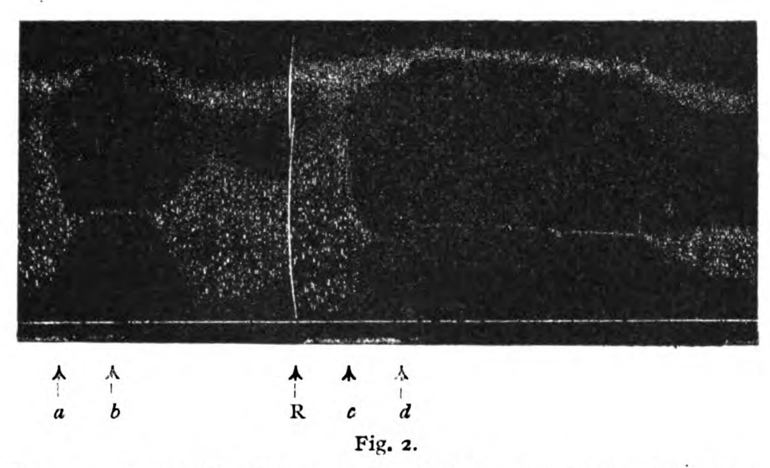


Fig. 2.

Fig. 2. — Cœur d'Esculenta, en haut oreillette, en dessous ventricule, En *a* : RINGER sans calcium, en *b* : addition de 0,7 cc. Ca Cl^2 ($^1/_{500}$); le cœur redevient normal Après des lavages répétés avec du RINGER (R) ; en *c* : RINGER sans calcium, en *d* : addition de 0,7 cc. Ca Cl^2 ($^1/_{500}$) obtenu par dilution d'une solution de 1 °/₀ qui a été en contact pendant 1/4 d'heure avec des globules rouges de lapin. La réaction du cœur montre que cette solution renferme moins de Ca que la solution témoin.

2° *Influence des érythrocytes sur l'action du potassium.*

Le Ringer sans potassium produit une phase de dissociation auriculo-ventriculaire et de chronotropisme négatif parce que, en l'absence de K la conduction auriculo-ventriculaire est troublée (fig. 3*a*).

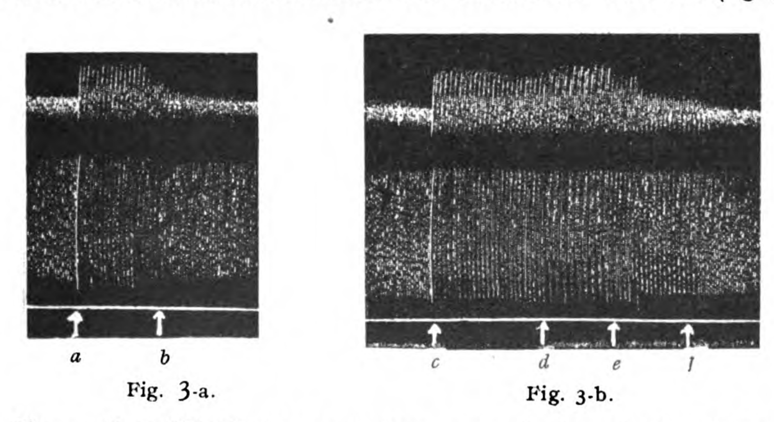


Fig. 3-a. Fig. 3-b.

Fig. 3.— Cœur d'Esculenta, en *a* : le RINGER normal est remplacé par du RINGER sans K, en *b* : addition de 0,06 cc. KCl $^1/_{2000}$: le cœur redevient normal. Après lavage avec du RINGER ordinaire, celui-ci est remplacé en *c* par du RINGER sans K ; en *d* : addition de 0,05 cc. de solution de KCl qui a été en contact à 1 °/₀ pendant quinze minutes avec les globules rouges de 3 cc. de sang de lapin, puis centrifugée et diluée, comme la solution témoin, à $^1/_{2000}$. Il faut ajouter deux nouvelles doses de 0,02 cc. en *e* et *f*, pour que le cœur redevienne normal.

mais il suffit d'ajouter 0,06 cc. de KCl 1/2000 au Ringer et le rythme normal du cœur se rétablit ; pour obtenir le même effet avec une solution de KCl qui a été en contact avec des globules, il faut ajouter près du double (0,05 + 0,02 + 0,02) (fig. 3-*d-e-f*). La solution étant moins active, on doit également admettre que les érythrocytes lui ont enlevé une certaine quantité du potassium actif.

3° *Influence des érythrocytes sur l'action successive du calcium et du potassium.*

Les recherches de BÖHM, BURRIDGE et O. LOEWI, ont montré que l'addition d'un sel de potassium au Ringer, renfermant déjà un excès de calcium produit cette fois sur le cœur, non pas un arrêt diastolique, mais au contraire une plus forte contracture ventriculaire

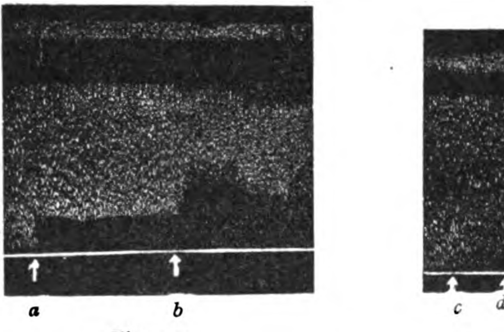


Fig. 4-a.

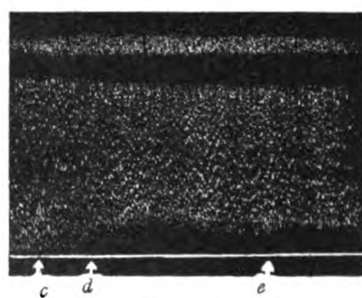


Fig. 4-b.

Fig. 4. — Cœur d'Esculenta, en *a* : addition de 0,1 cc. Ca Cl^2 1 °/o; en *b* : 0,5 cc, KCl 1 °/o. Après lavages répétés avec du RINGER pur, en *c* : addition de 0,2 cc. globules rouges du sang incoagulable, en *d* : 0,1 cc. $CaCl^2$ 1 °/o et en *e* : 0,05 cc. KCl 1 °/o.

(fig. 4-a) ; KOLM et PICK (18) interprètent cette inversion de l'action du potassium en présence d'un excès de calcium de la façon suivante : le calcium excite les centres de l'automatisme ventriculaire, il prédispose le ventricule à la contracture; le potassium au contraire tonifie le sinus et l'oreillette ; de là lorsque le ventricule est « plus prédisposé à la contracture » par un léger excès de calcium, l'addition ultérieure de potassium renforce cette action du calcium en excitant les centres cardiaques supérieurs.

Nous avons examiné quelle influence les érythrocytes exercent sur l'action successive du calcium et du potassium en employant cette fois des globules de sang non coagulé. CREVELD et BRINKMAN signalent en effet, que la perméabilité des globules rouges pour la glucose, admise par d'autres auteurs, est due à une altération de la couche périphérique des globules lors de la coagulation. Pour obtenir du sang incoagulable, nous nous sommes servi de l'anticoagulant « Novirudin », récemment signalé et étudié par ADLER et WIECHOWSKY (19),

cet anticoagulant serait, d'après ces auteurs, le sel sodique de l'acide huminique. L'addition in vitro de 1 mg. par cm^3 de sang, empêche la coagulation. L'addition de globules centrifugés de ce sang non coagulé, dans le Ringer de la canule de STRAUB, diminue notablement l'action du Ca-K sur le cœur, comme le montre l'examen comparatif des figures 4-a et 4-b, ce qui prouve donc que les globules du sang non coagulé retiennent eux aussi du calcium et du potassium.

Une dernière série d'expériences a été faite en utilisant le sang complet, prélevé chez le lapin par ponction cardiaque trans-thoracique au moyen d'une seringue vaselinée. Une petite quantité de ce sang est additionnée au Ringer de la canule de STRAUB, et on constate que l'action ultérieure du Ca-K est plus faible que dans l'expérience contrôle (fig. 5). Les globules du sang frais fixent donc également du Ca et K.

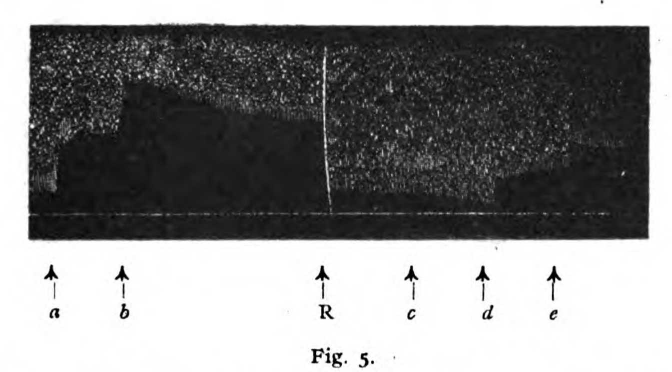


Fig. 5.

Fig. 5. — Cœur d'Esculenta, en *a* : addition de 0,13 cc. $CaCl^2$ 1 °/₀, en *b* : 0,05 cc. KCl 1 °/₀ ; en R lavages répétés avec du RINGER pur, en *c* : addition de 0,05 cc. de sang de lapin prélevé par ponction cardiaque, en *d* : 0,13 cc $CaCl^2$ 1 °/₀ et en *e* : 0,05 cc. KCl 1 °/₀.

Discussion.

Ces trois séries d'expériences démontrent d'une manière concordante que les solutions de Ca ou de K, qui ont été ou sont en contact avec les globules rouges du lapin, agissent plus faiblement sur le cœur de la grenouille que les solutions témoins ; ce fait prouve qu'entre la solution de Ca ou de K et les globules rouges il y a réaction; de quelle nature est-elle?

Pour élucider cette question, nous avons déjà institué une série d'essais. Nous ne croyons pas que cette fixation puisse s'expliquer par un phénomène d'adsorption physique car les globules traités préalablement par du noir animal diminuent au même degré l'activité du calcium et du potassium que les globules normaux. Comme il est difficile d'admettre que les globules rouges déversent dans la solution de calcium ou de potassium quelque substance empêchant l'action du

calcium et du potassium, nous croyons que les ions s'y fixent plus ou moins par combinaison chimique avec les albumines globulaires ; en tout cas, d'après nos essais, l'ovalbumine, le sérum sanguin, et le plasma du sang, rendu incoagulable par la « Novirudin », diminuent également l'activité du calcium et du potassium sur le cœur de grenouille, mais à un plus faible degré que les globules rouges intacts.

Par contre, les produits d'hémolyse complète des globules renforcent l'action du Ca-K; ce fait peut s'expliquer par la libération de ces sels contenus dans les globules normaux. Les stromata des globules partiellement hémolysés diminuent encore, mais à un plus faible degré, l'action des solutions qui ont été en contact avec eux.

Enfin, des essais avec du plasma musculaire de grenouille ont montré que ce plasma renferme du potassium ; l'addition de ce plasma au Ringer d'un cœur de grenouille se trouvant sous l'action d'un excès de calcium montre nettement la réaction cardiaque au potassium (fig 6). Nous citons surtout cette expérience pour indiquer la sensi-

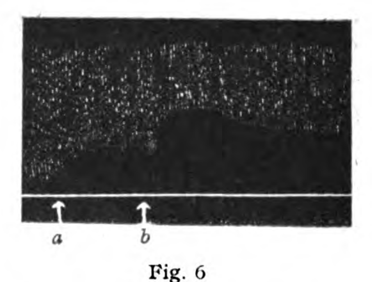


Fig. 6

Fig. 6. — Cœur de Rana Esculenta, en *a* : 0,2 cc. $CaCl^2$ 1 °/₀ en *b* : 0,2 cc. de plasma musculaire de grenouille. A remarquer l'action typique du potassium sur le cœur en présence d'un excès de calcium.

bilité de cette méthode biologique, qui pourra certes encore trouver des applications dans les recherches expérimentales ou cliniques. Toutes les expériences citées ont été faites avec des globules rouges de lapin; RICHARD (19) et KOZAWA (20) ont signalé que les érythrocytes de l'homme, du singe et du chien sont perméables à certains sucres, tandis que les globules du porc, du lapin, du cheval et du chat sont imperméables; la perméabilité des globules varierait donc d'après les espèces. Quelques expériences faites avec des globules rouges du chat et de l'homme semblent prouver que l'action des solutions de calcium ou de potassium sur le cœur de grenouille n'est pas diminuée en présence de ces globules, contrairement aux globules du lapin ; ces mêmes expériences devaient être instituées avec des globules d'autres espèces animales.

———

Conclusions.

1° Le cœur isolé de grenouille, nourri avec du Ringer d'après la méthode de STRAUB, constitue un réactif très sensible à l'ion calcium et potassium et permet d'en faire un dosage biologique.

2° Les solutions de $CaCl^2$ et KCl qui sont ou qui ont été en contact avec des globules rouges de lapin, sont moins actives sur le cœur de grenouille que les solutions témoins.

3° Les globules rouges du lapin fixent donc du calcium et du potassium.

Bibliographie.

1) HAMBURGER : *Zeits. f. Biol.*, XXXI, 414, 1889.
HAMBURGER : *Osmotischer Druck u. Ionenlehre.*
HAMBURGER : *Bioch. Zeits.*, 86, 309, 1918.
2) HEDIN : *Plfügers' Arch.*, 68, 329, 1897.
3) SIEBECK : *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm.*, 85, 214, 1918.
4) CREVELD : *Bioch. Zeits.*, 123, 304, 1921.
5) RICHARD : *C. R., Soc. biol.*, 83, 697, 1920.
6) SNAPPER : *Bioch. Zeitsch.*, 81, 53, 1913.
7) WIECHMANN : *Plfügers' Arch.*, 189, 109.
8) GIRARD : *C. R. Soc. biol.*, 76, 817.
9) CALUGAREAU : *C. R. Soc. biol.*, 54, 460.
10) RICHTER-QUITTNER : *Bioch. Zeits.*, 115, 60.
11) HAMBURGER et BUBANOVIC : *Arch. intern. de physiologie*, Vol. 10, p. 1, 1910.
HAMBURGER : *Zeits. f. Phys.*, 26, 414.
HAMBURGER : *Arch. Neerl. de Physiologie*, 2, 636.
HAMBURGER : *Zentralbl. f. Phys.*, 1145, 1910.
HAMBURGER : *Lancet*, 1039, 1921.
12) HÖBER : *Physikalische Chemie der Zeile u. der Gewebe*
13) BAYLISS : *Principles of General Physiology.*
14) PICK E. : *Klin. Wochensch.*, 1, 2188, 1923.
15) CLARK : *Journ. of Physiol.*, 4766, 1913/14
16) BURRIDGE : *Quart. Journ. of exp. Physiol.*, 5, 347.
17) LOEWI : *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 83, 366, 1918.
18) KOLM u. PICK : *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 89, 137, 1921.
PICK : *Wiener Klin. Wochensch.*, 50, 1920.
19) ADLER u. WIECHOWSKY : *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 92, 22.
20) STRUZO-KOZAWA : *Bioch. Zeits.*, 60, 231.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. U. DI MESSINA.
(DIRETTORE : G. VINCI.)

II. — Ricerche farmacologiche sul principio attivo della Liquorizia (Glycyrrhiza Glabra, L., Glycyrrhiza α tipica, Reg. e Herd)

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

« L'attenzione prestata a certi fatti minuti della natura, può dare grandi frutti e luminose verità ».
C. CANTÙ.

Introduzione.

Negli « Archives intern. de Pharmacodynamie et de Thérapie » del 1923, vol. XXVIII ho pubblicato alcune ricerche chimiche e farmacologiche sul principio attivo della liquorizia. In esse ho reso nota l'azione generale, sul midollo spinale, sulla corteccia cerebrale, sul cuore, sul circolo, sui nervi di senso, di moto e sulla sensibilità gustativa, ed ho promesso di ritornare sull'argomento. Comunico ora questa seconda parte delle ricerche farmacologiche le quali confermano l'azione generale depressiva e paralizzante del principio attivo della liquorizia che ho messo in evidenza nella prima nota.

1. — Azione sulle cellule, sui leucociti, sugli organismi inferiori e sui pesci.

La glicirizzina, come é tossica per gli animali superiori; è pure ve enosa per gli organismi inferiori e per i leucociti.

L'azione è la stessa, agisce prima come depressivo poi come paralizzante.

Vorticella nebulifera. — Le vorticelle sono molto sensibili a questa sostanza. Se noi facciamo pervenire una soluzione di glicirizzina 1/500 in un preparato microscopico di questi infusori, fatto secondo la tecnica abitualmente usata in queste ricerche, osserviamo quanto segue :

Le vorticelle non sembrano accorgersi subito del nuovo ambiente nel quale si trovano, restano espanse sul peduncolo e i movimenti

vibratili della ciglie continuano vivaci, dopo un certo tempo però, da quindici a venti minuti circa, questi movimenti diventano torpidi. L'infusorio, se viene urtato, non scatta più come una molla sul suo peduncolo, ma il mionema si retrae con una certa lentezza. In progresso di tempo, i movimenti delle ciglia vibratili si arrestano e l'infusorio pende inerte dal suo peduncolo, o si stacca dalla colonia. Osservando allora attentamente la campanula, si vede che il nucleo, foggiato a ferro di cavallo, è più grosso e più chiaro. Se si asporta dal preparato la soluzione di glicirizzina, usando la solita tecnica della carta bibula, gli infusori non si rimettono che lentamente e solo nel caso che la glicirizzina abbia agito per poco tempo.

Stentor balantidium — Paramecium A. — Questi infusori, come si fa pervenire la soluzione di glicirizzina $\frac{1}{200}$ sui preparati microscopici delle loro culture, si muovono vivacemente e solcano rapidissimi il campo del microscopio.

Questo periodo di agitazione dura poco ed è seguito da disordine nei movimenti. Ruotano su se stessi e il movimento delle ciglia diventa sempre più torpido, finchè si arresta.

Trasportandoli in acqua pura non si rimettono che lentamente e per molto tempo sono incapaci di dirigersi.

Leucociti. — Ho esperimentato su sangue umano, di cane e di coniglio, allungato con soluzione fisiologica e poscia centrifugato. Con pipetta ho raccolto la parte superiore del centrifugato che ho distribuita in soluzioni di diversa concentrazione di glicirizzina ed ho osservato al microscopio.

In una soluzione $\frac{1}{200}$ i leucociti perdono immediatamente i movimenti ameboidi ed assumono forma sferica.

In soluzioni più diluite, i movimenti ameboidi, dopo un certo tempo, diventono torpidi e finalmente si arrestano.

I nuclei si presentano prima ingrossati e poi si chiarificano.

Cellule. — Ho sperimentato sulle cellule di patata che si trovano sotto alla buccia ed ho confrontato queste esperienze con altre simili fatte con cloridrato di chinina.

Sezioni di patata venivano immerse parte in soluzione diluita di cloridrato di chinina, parte in soluzione di glicirizzina $\frac{1}{100}$.

A varii intervalli si prelevavano le sezioni dalle soluzioni e si deponeva sopra di esse una goccia di soluzione alcoolica all' $\frac{1}{100}$ di resina di Guaiaco.

Dal complesso delle esperienze, che ritengo inutile riportare nei dettagli, risulta : la glicirizzina deprime leggermente il potere di

ossidazione del protoplasma delle cellule vegetali; infatti sotto la sua azione la patata, trattata colla resina di guaiaco, non si colora in azzurro che dopo tempo, e la tinta che presenta è poco intensa.

Azione sui pesci. — Le esperienze furono condotte sul *Carassius auratus.*

Questi pesciolini, posti in vasca contenente soluzione $\frac{1}{10000}$ di glicirizzina, si mostrano, dopo circa $\frac{1}{2}$ ora, molto eccitati e, per ogni piccolo urto portato sul recipiente, guizzano con rapidità anormale. In questa concentrazione però non vengono a morte neanche dopo molte ore.

Immersi invece in una soluzione $\frac{1}{2000}$, dopo circa 20 minuti, si mostrano molto agitati, guizzano continuamente in tutti i sensi e tentano saltare fuori dal recipiente.

In seguito non si dirigono più bene nè riescono a mantenersi a galla senza sforzo di pinne, poi lentamente i movimenti delle pinne, e quelli respiratorii diventano sempre più lenti, finchè si arrestano. In ultimo i pesci presentano ancora qualche scossa convulsiva; poi muoiono.

Se, quando i movimenti respiratorii tendono ad arrestarsi, si trasportano i pesci in acqua pura, essi durano un pò più a lungo ma non riescono a rimettersi dell'avvelenamento e muoiono dopo un'ora circa.

***

Queste mie esperienze confermano le conclusioni alle quali sono guinto studiando l'azione generale di questa sostanza.

La glicirizzina ha azione depressiva e paralizzante sul protoplasma cellulare, sui leucociti, sugli organismi inferiori e sui pesci.

2. — Potere emolitico.

Questa sostanza possiede potere emolitico abbastanza spiccato.

Se si mescola, su vetrino portaoggetti, una goccia di sangue con una goccia di soluzione di glicirizzinato d'ammonio all' $\frac{1}{100}$ e si osserva al microscopio, si vedono i globuli rossi, alcuni rigonfiarsi e sciogliersi, altri diventare spinosi, coartarsi, e poi lentamente sciogliersi. Il campo assume una colorazione rosso-brunastra; compaiono micelle brune, dotate di vivaci movimenti Browniani, che confluiscono fra loro e formano un precipitato di colore bruno scuro.

Se si mescola sangue defibrinato, lavato ed allungato con soluzione fisiologica, con diluizioni varie di questa sostanza, dopo qualche tempo, a seconda della concentrazione, si ha emolisi, e, in progresso di tempo, si determina un precipitato fioccoso bruno.

Riporto il protocollo di una esperienza.

Soluzione glic-ammonio 1/200 cm³	Soluzione fisiologica cm³	Globuli rossi mesc. 1.19 cm³ di sol. fisiologica	Temperatura	Tempo in minuti	Osservazioni	Flocculazione dopo minuti
10	—	1	37	—	Emolisi immediata e completa.	30
2	7	1	»	60	Emolisi completa.	90
1	8	1	»	120	Emolisi completa.	240
0,75	8,25	1	»	180	Emolisi accennata.	accennata
0,5	8,5	1	»	360	Emolisi incompleta e appena accennata.	

Da queste ricerche risulta che per concentrazione $\frac{1}{200}$ circa si ha emolisi immediata e, dopo $\frac{1}{2}$ ora, compare un precipitato fioccoso che si raccoglie lentamente al fondo della provetta.

Per concentrazione $\frac{1}{2000}$ l'emolisi avviene dopo 2 ore e il precipitato dopo 4 ore.

Per concentrazione 1:4000, dopo 6 ore di permanenza in termostato; si ha emolisi incompleta.

L'emolisi è impedita da piccole quantità di colesterina.

Anche i globuli rossi nucleati (piccione, rana) vengono emolizzati immediatamenta da concentrazioni $\frac{1}{200}$; i nuclei però permangono intatti anche dopo molto tempo.

3. — Azione locale.

Azione sulla congiuntiva. — Ho sperimentato sul coniglio.

Per istillazione ripetuta di soluzione $\frac{1}{100}$ di glicirizzina si ha leggero arrossamento delle congiuntive che presto sparisce.

Azione per iniezioni sottocutanee. — Tanto nei piccioni che nelle cavie, nei conigli e nei cani, nel punto della iniezione, si osserva, qualche tempo dopo, un leggero edema talvolta appena emorragico.

Se l'animale sopravvive, questi leggeri fatti irritativi locali spariscono in pochi giorni.

Questi fenomeni sono più manifesti per le forti concentrazioni sono appena accennati, o mancano, per le deboli.

4. — Azione cumulativa — assuefazione.

Dato che questa sostanza si elimina lentamente, era necessario indagare se l'uso continuo, per le vie artificiali di assorbimento, fosse capace di provocare fenomeni di accumulo, o di assuefazione, o di maggiore sensibilità.

Perciò ho somministrato, sempre per via ipodermica, a rane e a cavie per molti giorni e quotidianamente delle dosi da $\frac{1}{4}$ ad $\frac{1}{6}$ della dose letale che poi aumentava mano mano fino a raggiungere la dose minima letale.

Per brevità riporto solo le conclusioni alle quali sono giunto:

1°) L'uso potratto di piccolissime dosi non da disturbi notevoli.

2°) Dosi da $\frac{1}{3}$ ad $\frac{1}{4}$ della letale determinano fenomeni di leggera depressione generale che si rendono più manifesti di giorno in giorno.

Sopprimendo il farmaco, gli animali si rimettono completamente ma lentamente.

3°) Non si stabiliscono fenomeni di assuefazione e si ha leggera azione cumulativa.

5. — Assorbimento — eliminazione.

Le nostre conoscenze, sul comportamento della glicirizzina nell'organismo, sono limitate alle esperienze personali del Witte, il quale, avendo ingerito 30 grammi di glicirizzina, ebbe qualche bruciore di stomaco, scariche diarroiche ripetute, ma non riscontrò farmaco nelle urine.

Ho creduto perciò necessario fare uno studio sistematico di questo argomento, vedere cioè se questa sostanza viene assorbita,

in quanto tempo si elimina e per quali vie, tanto se somministrata per os, quanto per via ipodermica.

Ho esperimentato su conigli, somministrando con sonda gastrica 1-2 gr. di glicirizzina in sospensione acquosa o, iniettando sotto cute, dosi di 0,20 a 0,30 gr. per kg. di animale.

Le urine erano ricavate per cateterismo ogni 10 minuti, per tutta la durata dell'esperienza.

La ricerca del farmaco era fatta nel modo seguente : L'urina ricavata è portata a secchezza a b. m.

Il residuo si fa bollire a ricadere con pochissimo etere acetico. Si filtra.

Al filtrato si aggiunge qualche goccia di acido solforico concentrato. In caso positivo compare una intensa colorazione giallo dorato che lentamente passa al rosso e poi al bruno.

Le feci emesse durante l'esperienza sono essiccate a bagnomaria, polverizzate e trattate nel modo sopradetto.

Con questo metodo fu sempre facile la ricerca del farmaco nelle feci e nelle urine, mentre, operando con gli altri solventi della glicirizzina, (acido acetico, alcool) i risultati non furono mai buoni.

Riporto i protocolli di 2 esperienze.

Esperienza 1°. — Coniglia gr. 1650, digiuna da 12 ore.

5 Marzo. — Ore 10. Si somministra con sonda gastrica gr. 1 di glicirizzina sciolta in 100 cm³ di acqua.

Ore 10,10. Con cateterismo si ricavano 5 cm³ di urina, che, trattati con la tecnica sopra citata, danno reazione negativa.

Ore 10,20. Le urine ricavate danno reazione negativa.

Ore 10,30. Le urine, dopo il trattamento sopradetto, presentano una debole reazione gialla che poi lentamente passa al rosso.

Ore 10,40. Reazione manifesta nelle urine.

Ore 11. Reazione intensa.

Ore 11,30. Reazione intensa.

Ore 12. Idem. L'animale emette feci che trattate nel modo sopradescritto presentano la reazione.

Ore 16. Idem per le urine.

Ore 20. Reazione positiva nelle feci e nelle urine.

6 Marzo. — Ore 8. Debolmente positiva la reazione nelle feci e negativa nelle urine.

Ore 10. Reazione negativa.

Esperienza 2°. — Coniglio gr. 1500. Digiuno da 12 ore.

7 Marzo. — Ore 10. Si iniettano sotto cute, in diverse parti del corpo, cgr. 50 di glicirizzinato di ammonio sciolto in 20 cm³ di acqua.

Ore 10,10. Si ricava l'urina per cateterismo. Reazione negativa.

Ore 10,20. Si ottengono le orine per espressione, le quali, trattate nel modo sopraindicato, presentano debole colorazione gialla.

Ore 10,30. Le urine ottenute per cateterismo presentano spiccata la reazione.

Ore 11. Reazione sempre positiva nelle urine.

Ore 11,30. Idem. L'animale emette feci, che trattate col consueto metodo, danno reazione intensamente positiva.

Ore 16. Reazione positiva nelle urine.

8 Marzo. Ore 8. Reazione positiva nelle feci e nelle urine emesse durante la notte.

Ore 12. Reazione positiva nelle urine e nelle feci emesse spontaneamente.

Ore 16. Idem.

9 Marzo. Ore 8. Reazione positiva nelle urine emesse durante la notte.

Ore 12. Reazione debolmente positiva nelle urine e nelle feci emesse spontaneamente.

Ore 16. Idem.

Ore 20. Reazione negativa nelle urine e nelle feci.

Da queste esperienze, e da numerose altre eseguite che non riporto per brevità ; risulta che l'eliminazione della glicirizzina, quando venga somministrata per bocca si inizia, in minima quantità, per le urine dopo 30 minuti.

L'eliminazione avviene nella massima parte per le feci e dura a lungo mai meno di 21 o 22 ore.

Somministrata invece per via ipodermica, l'eliminazione s'inizia per le urine dopo 20 minuti e dura non meno di 53 ore.

Si elimina pure in parte per le feci.

6. — Scindibilita' del farmaco in vitro e in vivo.

Dalle ricerche di TSCHIRCH e CEDERBERG risulta che l'acido glicirizzinico, quando venga bollito con acido solforico all' $\frac{1}{100}$ per 2 ore in autoclave alla pressione di 2 atmosfere, si scinde in acido glicuronico ed acido gliceritinico corrispondente alla gliceritina dei primi autori. Era necessario indagare il comportamente di questa molecola nell'organismo vivente. Per ciò fare ho esperimentato su conigli e su rane e ho cercato di vedere se la glicirizzina si elimina come tale oppure nei suoi prodotti di scissione.

Sin dalle prime esperienze mi sono accorto però che era impossibile identificare per via chimica il prodotto di eliminazione, giacchè tanto la glicirizzina che il prodotto di scissione si comportano allo stesso modo con acido solforico, ed inoltre, i prodotti eliminati, che ho ottenuto sempre in piccola quantità, sono mescolati a sostanze estrattive delle urine che ne ostacolano la separazione.

Per studiare il comportamento di questa sostanza in vivo sono ricorso alla reazione biologica e mi sono servito come reattivo della rana, animale molto sensibile a questa sostanza.

Le urine di un coniglio, trattato per via ipodermica con forti dosi non letali di glicirizzina, erano raccolte sinchè presentavano manifesta la reazione di questo farmaco ed erano poscia portate a secchezza a b. m., polverizzate ed estratte con etere acetico bollente a ricadere. Si filtrava, si concentrava l'etere acetico fino a consistenza sciropposa, si versava a strato sottile su cristallizzatore e si

lasciava essiccare liberamente. Si ottenevano in tal modo delle squamette gialle a superficie levigata adamantina.

Una piccola quantità di questa sostanza, sciolta in acqua, veniva iniettata nel celoma di una rana.

Riporto il protocollo di una esperienza :

Esperienza 3. — Coniglia di gr. 1500.

3 Aprile. — Ore 8. Si inietta sotto cute, in diversi punti, un grammo di glicirizzinato d'ammonio disciolto in 50 cm³ di acqua.

Ore 8,30. Si raccolgono ogni tanto per spremitura le urine. Saggiate col metodo indicato, danno positiva la reazione del farmaco.

4 Aprile. — Idem.

5 Aprile. — Ore 18. Le urine raccolte nei giorni precedenti e quelle emesse spontaneamente durante la notte vengono essiccate a bagnomaria e trattate col metodo sopradescritto. — 10 cgr. della sostanza estratta, vengono iniettate nel celoma di una rana che muore nella giornata coi fenomeni paralitici caratteristici.

Da queste esperienze, e da altre che non riporto per brevità, risulta che il principio attivo della liquirizia, quando venga iniettato sotto cute, viene eliminato come tale o come un prodotto di scissione tossico, infatti le rane, alle quali si inietti il prodotto ricavato dalle urine, moiono durante la giornata coi sintomi tipici di questo veleno.

7. — Diffusione e ricerca della sostanza negli organi.

Ho creduto opportuno studiare la diffusione di questa sostanza negli organi a seconda del modo di somministrazione.

Ho seguito la tecnica seguente: Gli animali (conigli e cavie) ricevevano per bocca delle forti dosi di glicirizzina, per iniezione delle dosi non letali, e venivano sacrificati, dopo un tempo variabile, per dissanguamento.

Gli organi asportati erano lavati in acqua distillata, la cistifellea legata ed asportata in toto, l'umore acqueo ed il liquido cefalorachidiano aspirati con siringa l'uno della camera anteriore dell'occhio, l'altro attraverso la membrana occipito-atlantoidea messa allo scoperto.

Per la ricerca della sostanza, quantità determinate di organi o di liquidi, venivano essiccati a temperatura di 40°, polverizzati, bolliti a ricadere con etere acetico. Si filtrava, e si lasciava evaporare l'etere acetico fino ad un volume determinato. Per aggiunta di acido solforico si aveva una colorazione gialla più o meno intensa, di guisa che era possibile formarsi un criterio approssimativo del contenuto di glicirizzina di ciascun organo.

Con questo metodo ho potuto riscontrare in quali organi si diffondesse più la sostanza ed in qual fosse appena percepibile.

Dalle mie ricerche risulta che la glicirizzina, quando venga

somministrata per os, si riscontra in maggior copia nella bile, nel fegato, nello stomaco e nell'intestino, in piccolissima quantità nel rene e nelle urine, e in quantità minime, appena percepibili, negli altri organi.

Per iniezione ipodermica invece, la maggior parte si trova nel rene, nelle urine, nello stomaco e nello intestino, in quantità discreta negli altri organi.

8. — Azione sui muscoli striati.

La tecnica che ho seguito in queste ricerche è molto semplice.

Il gastronemio di una rana era fissato in un miografo verticale affondato in un recipiente contenente soluzione di RINGER-LOCKE.

Determinavo la corrente minima atta a provocare la contrazione del muscolo integro e poi trasportàvo il miografo in un recipiente contenente soluzione di glicirizzina all' 1% in RINGER-LOCKE ed, ad intervalli regolari di tempo, ne saggiavo l'eccitabilità.

Dalle mie ricerche risultò evidente, che, per effetto della glicirizzina, l'eccitabilità muscolare decresce rapidamente.

Il muscolo di rana avvelanata é prima poco poi punto eccitábile.

CONCLUSIONI.

1°) La glicirizzina ha azione depressiva paralizzante sulle cellule, sui leucociti e sugli organismi inferiori.

2°) E' tossica per i pesci in soluzione all' $\frac{1}{2000}$.

3°) Ha potere emolitico alla diluizione $\frac{1}{4000}$.

4°) Ha leggera azione irritante locale.

5°) Non si stabiliscono fenomeni di assuefazione e si ha leggera azione cumulativa.

6°) Somministrata per os, l'eliminazione avviene in massima parte per le feci, solo una piccola parte passa per le urine, dove si può mettere in evidenza 30 minuti dopo la somministrazione del farmaco.

Somministrata per via ipodermica, si elimina parte per le feci, parte per le urine e l'eliminazione non dura meno di 53 ore.

7°) Iniettata sotto cute viene eliminata come tale o come un prodotto di scissione tossico.

8°) Somministrata per bocca, si riscontra in maggior copia nella bile, nel fegato, nello stomaco, e nell'intestino, in piccolissima quantità nel rene e nell'urina, in quantità appena percettibili negli altri organi.

Somministrata per via ipodermica invece, la maggior parte si trova nel rene, nelle urine, nello stomaco e nell'intestino, in discreta quantità negli altri organi.

9°) Abbassa notevolmente l'eccitabilità muscolare.

BIBLIOGRAFIA.

La bibliografia sarà data in altra nota.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. U. DI MESSINA.
(DIRETTORE: G. VINCI)

E' il principio attivo della liquorizia una sostanza del gruppo delle saponine?

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

La verità è a perpetuo farsi.
KANT.

Introduzione.

Poche droghe, come la liquirizia, sono note da tanto tempo e sono state studiate con tanta accuratezza da tanti Autori.

Ad onta di ciò, le nozioni chimiche, fisiologiche e farmacologiche che noi possediamo sul suo principio attivo-la glicirizzina-sono ancora incomplete.

Io, incoraggiato dal contributo (1) che ho già portato su questo argomento facendo conoscere l'azione farmacologica che la glicirizzina esplica nell'organismo e che era passata inosservata, ho studiato accuratamente questa sostanza, e, in seguito ai risultati delle mie ricerche, sono venuto alla conclusione che la glicirizzina, sinora annoverata da alcuni AA. nel gruppo molto vasto dei glicosidi, per i suoi caratteri fisici, chimici, biologici e farmacologici, può ricordare tanto le saponine che un confronto con queste sostanze è possibile.

In questa nota infatti, dopo un rapido cenno della storia, dei caratteri botanici di questa droga, e dei metodi di preparazione usati dagli AA., passo in rassegna sistematica le proprietà della glicirizzina, e, paragonandole a quelle delle saponine, richiamo l'attenzione degli studiosi di questo argomento sù ciò, per vedere se non sia il caso di considerare se questa sostanza, per i suoi caratteri, possa appartenere o avvicinarsi a quel gruppo.

A. — PARTE GENERALE.

Botanica. — Di queste leguminose una specie, la glabra, è officinale per il maggior numero delle farmacopee, per l'Austr, Brit, Dan, Hung, invece è officinale la varietà glandulifera.

Io mi sono occupato della prima, glycyrrhiza glabra α tipica (Reg. e Herd.).

E' un arbusto molto diffuso in Sicilia e in Calabria, alto da 1/2 m. a 1 m. e più. Foglie composte senza stipole, con 6-7 paia di foglioline e una impari, ovate, lanceolate, intere o leggermente dentate, glabre, vischiose.

Fiori ascellari, a grappolo, peduncolati, papilionacei, calice tubuloso, bilabiato, carena con due patali distinti, di colore azurro — porporino. Il frutto é un legume, ovale, compresso, glabro, con 5-6 grani.

La radice principale è lunga appena 15 cm.

Da questa si dipartono 3-5 radici secondarie, diritte, lunghe sino a 1 m., che si affondano senza ramificarsi molto e sono coprte di sottili e pieghevoli radichette.

La radice principale emette pure stoloni molto lunghi, grossi anche un dito, che si estendono orizzontalmente a piccola profondità al disotto del suolo e che, nel secondo anno, producono dei rami aerei in un punto assai distante dalla pianta madre.

Storia. — Per il suo sapore intensamente dolce la liquirizia è conosciuta, coltivata e stimata da tutti i popoli.

La diffusione e la conoscenza di questa droga ci è provata dal fatto che ogni popolo, antico o moderno, ha nella sua lingua una voce per indicarla (2) ; la stima, dal fatto che era usata nelle cerimonie religiose.

Pianta originaria dell'Oriente ; i romani la traevano della Cilicia e dal Ponto (Plinio) e i Greci dalla Scizia (Teofrasto) (3).

La sua cultura in Europa si diffuse molto tardi ; infatti non è compresa nella lista delle piante che Carlo Magno, nell'812 ordina d'introdurre dell'Italia nell'Europa centrale (4) ; non è descritta da Walafridus STRABUS (5) nell'800 tra le erbe del giardino del convento, di Reichenau ; non è nominata nel 1000 dell'arciprete di Canterbury (6) nella sua lunga lista di piante ; PIETRO CRESCENZIO (7) di Bologna la nomina per la prima volta nel 1300 come coltivata in Italia. Si diffuse poi lentamente nella restante Europa e alla fine del 1700 si trova già nell'Inghilterra e in Germinia.

Antichissimo invece è il suo uso in Orientale.

In sanscrito è chiamata *Jastimadhuka*. Era usata dagli indianï, assieme ad altri ingredienti, per preparare il bagno per il giorno natalizio di Budda che ricorre l'8° giorno dell'8° mese dell'anno.

Attualmente è diffusa in tutta Europa, coltivata specialmente in Spagna, Italia ; inscritta in tutte le farmacopee.

A diffondere la conoscenza di questa pianta nel mondo antico ha contribuito non poco l'esportzione che, da tempi remmissimi : si faceva dall'oriente del suo estratto secco conosciuto sin dai tempi di Dioscoride.

Durante il medio — evo pare fosse di uso comune, perchè nel 1264 (8) la voce liquirizia è compresa nei conti del guardaroba di ENRICO III e, dato il prezzo molto alto, dobbiamo ritenere trattarsi di estratto e non di radice.

Nel 1305 (9) EDOARDO 1° comprende questa sostanza tra le merci straniere sulle quali avea imposto un balzello per riparare il Ponte di Londra.

SALADINO (10) nel 1400 ricorda che è tenuto dagli speziali italiani e nel 1450 si trova nominato in una lunga lista di droghe della città di Francoforte (11).

In seguito, diffondendosi la coltivazione della pianta in Italia ed in Europa, l'estratto secco viene fabbricato in Italia nel 1500 e in Germania nel 1560.

Usi terapeutici. — Gli antichi la ritenevano buona nell'asma, nella tosse secca e in genere in tutte le malattie polmonari.

Per la sua dolcezza, per l'azione demulcente e lassativa fu molto usata nel medio — evo ed è usata tuttora

Attualmente è per lo più impiegata come eccipiente, ma fa parte di numerosi estratti, elisir, specie pettorali inscritte in varie farmacopee ed è adoperata in moltissime specialità come uno dei migliori correttivi.

Gli AA. riconobbero al suo principio attivo, adoperato per os a dose di 15-30 gr., una leggera azione lassativa ; (12) lo consigliano (13) pure come corrigente delle misture amare e nauseose ; SEMOLA infine gli riconosce sugli altri zuccheri il vantaggio che, sotto l'azione dei fermenti che pullulano nella bocca e nello stomaco nel corso di molte malattie, non si trasformerebbe in sostanze acidi intollerabili.

Io ha trovato che, somministrata per le vie artificiali di assorbimento, ha una azione generale depressiva che era passata inosservata agli AA. che mi hanno preceduto.

Composizione. — Contiene saccarosio, glucosio, mannite, amido, asparagina, tannino, sostanza colorante gialla, un olio etereo.

Il principio attivo dolce è costituito dalla glicirizzina (acido glicirizzinico).

B. — PARTE CHIMICA.

ESTRAZIONE.

La glicirizzina — riconosciuta glicoside da GORUP-BESANEZ (14) ottenuta impura da PFAFF (15), e poi da ROBIQUET (16), — fu in seguito studiata da molti AA. i quali cercarono di ottenerla pura con diversi metodi, cosa che fu solo possibile, in questi ultimi anni, in seguito ai lavori di TSCHIRCH e della sua scuola.

VOGEL (17) la preparò purificando più volte dall'alcool asso-

luto il precipitato ottenuto per azione dell'acetato di Pb sulla soluzione acquosa dell'estratto di radice e decomposto con idrogeno solforato.

Rump (18), l'ottenne trattando con acido cloridrico una soluzione leggermente ammoniacale di liquirizia del commercio, sciogliendo in ammoniaca acquosa il precipitato così ottenuto, separando il Ca ed il Mg con fosfato ed ossalato di ammonio e riprecipitando di nuovo con acido acetico.

Vitali (19) propose un metodo col quale, operando con cura, si ha qualche buon risultato.

Si precipita a freddo con acido solforico diluito un estratto acquoso concentrato della radice e si lava abbondantemente per eliminare l'eccesso di acido. Il precipitato si scioglie in poco alcool e, allungato con etere, precipita una resina bruna. Si filtra e si porta a secchezza a b. m.

Martin (20) invece l'ottenne precipitandola con cremortartaro dall'infuso, digirendo con alcool il precipitato e portando poi a secchezza.

Gorup-Besanez (1861) precipita con acido solforico l'estratto filtrato a caldo della radice. Lava a lungo con acqua per decantazione, sino a che è privo di acido solforico, il precipitato fioccoso così ottenuto.

Scioglie il precipitato in poco alcool, aggiunge dell'etere che fa precipitare una resina bruna, filtra e riporta a secchezza in b. m.

Ripetendo questa operazione diverse volte ottiene la sostanza pura.

Roussin (21) ottenne il sale ammoniacale precipitando con acido solforico diluito l'estratto acquoso della radice, lavando a lungo per decantazione con acqua questo precipitato e poi sciogliendolo in alcool ed etere, filtrando, concentrando e riprendendo con acqua ammoniacale.

J. Habermann (22), con acido acetico estrasse dalla glicirizzina acquistata dalla Casa Tromnsdorf di Erfurt, un corpo che per mezzo dell'alcool cristallizzava in aggregati di aghi prismatici a superficie curva, insolubili in etere.

F. Sestini (23) confessa che la preparazione della glicirizzina è faticosa e poco produttiva. Egli tratta a caldo la radice polverata, per quattro o cinque volte, con poca acqua alcalinizzata con calce spenta.

Riduce l'estratto ad 1/4 del suo volume ed acidifica con acido acetico.

Si ha un precipitato gelatinoso brunastro che, raccolto per decantazione, è lavato su filtro con acqua fino a che è privo delle ultime tracce di acido acetico. Scioglie questo precipitato in alcool a 60° e lo chiarifica con carbone animale a T. di 60° agitando tratto



tratto. Dopo tre settimane, filtra, evapora a b. m., ed ottiene un prodotto che, dopo ripetute soluzioni in alcool e trattamento con carbone, scioglie in alcool assoluto, filtra ed aggiunge il doppio volume di etere, che dà luogo ad un tenue precipitato biancastro che separa con la filtrazione. Per successive precipitazioni, con grandi volumi di etere, ottiene una massa bianco — giallognola formata da piccole masse translucide che qualche volta appaiono imperfettissimi cristalli, ma non sono tali.

Ottimi risultati invece si ottengono col metodo proposto da TSCHIRCH e CEDERBERG (24) nel 1907 e recentemente (1921) usato con successo nelle loro ricerche da P. W. KARER e C. CHAO (25).

Gli AA. per ottenere il glicirizzinato di potassio operano cosi: un Kg. di radice tagliata finamente viene posta in 5 litri di acqua e riscaldata a b. m. per 5 ore. Dopo si filtra per panno e si pressa il residuo.

Alla soluzione cosi ottenuta, concentrata ad 1/3 del volume primitivo, viene aggiunto 200 cm^3 di soluzione di acido solforico al 50 %.

Si separa un precipitato voluminoso che viene filtrato per calza, lavato con molta acqua e poscia asciugato su mattoni porosi. Con questa prima operazione si ha una resa di 28 gr. di prodotto impuro, secco. Il prodotto cosi ottenuto si scioglie in 4 volte il suo peso di alcool e si bolle a ricadere per un'ora. Si filtra ed al filtratosi aggiunge, sempre agitando, una soluzione alcoolica di potassa, sino a che il liquido passa al rosso arancio.

Si forma un precipitato, che viene raccolto su filtro, lavato con alcool e cristallizzato dall'acido acetico bollente.

Per successive cristallizzazioni dall'acido acetico bollente e lavaggi con alcool ed etere, si ha il sale puro, bianco come neve.

In queste mie ricerche ho usato l'acido glicirizzinico e i suoi sali preparati o secondo il metodo di TSCHIRCH e CEDERBERG, o estratti, con etere acetico bollente dal precipitato ottenuto dal decotto della radice per aggiunta di un acido diluito, secondo un mio nuovo metodo che esporrò per esteso in altra nota. Usai pure la radice come tale o il suo infuso semplice.

C. — PARTE SPECIALE.

I. — CARATTERI CHIMICI E FISICI.

a) L'acido glicirizzinico si presenta come una polvere alquanto igroscopica, di colore bianco, o appena giallastro, di aspetto cristallino. Dico di aspetto cristallino perchè in effetto esso si consolida in uno strato a superficie piana, levigata, lucentissima, che per ulteriore disseccamento, con la formazione di fratture irregolari raggiate, si

divide in squamette di forma irregolare raggiate, con lucentezza adamantina.

Posto sulla lingua, come si scioglie nella saliva, ha sapore dolce intenso.

E' inodoro, ma, sciolto in soluzione alcalina, emana un odore caratteristico, che ricorda quello della radice da cui proviene.

L'acido glicirizzinico è una sostanza solubile in acqua, che reagisce fortemente acido alla carta tornasole, che non viene precipitato dagli acidi deboli (carbonico-borico) bensi dagli acidi forti. E' insolubile in etere, cloroformio, solfuro di carbonio, alcool amilico, xilolo, benzolo, etere di petrolio, solubile in alcool, specie se acquoso, acido acetico, etere acetico, alcool metilico.

Le soluzioni acquose concentrate di acido glicirizzinico, o dei suoi sali, dopo un pò di tempo dalla loro preparazione, difficilmente filtrano anche alla pompa, e, scaldate alla temperatura di ebollizione, si trasformano in una massa gelatinosa che non si rovescia dai recipienti nei quali è contenuta. Questi fatti starebbero a provare la natura colloidale di questa sostanza.

Con acido solforico concentrato, l'acido glicirizzinico, o la sua soluzione acetica, assume una colorazione che dal giallo intenso, passa al rosso. Con acido solforico e bicromato di potassio, assume una colorazione verde.

Con acido solforico ed una traccia di soluzione di furforolo dà una colorazione rosso-violacea fugace.

Trattato con gli alcali, assume colorazione gialla, più o meno intensa.

Bollito con soluzione di FEHLING non la riduce neppure protraendo a lungo l'ebollizione. Lo riduce invece se viene prima bollito a lungo con un acido minerale, e si separa un precipitato rosso di ossidulo di rame.

L'emulsina ed i fermenti del formaggio lo scindono.

b) Se si agita il decotto, o la radice di liquirizia contusa e sospesa in acqua, o in acqua resa leggermente alcalina con ammoniaca o con un altro alcali qualunque, si forma una schiuma cosi densa e persistente che può raccogliersi a manciate e conservare per qualche tempo. Da un Kg. di radice contusa si può ottenere in poco tempo tanta schiuma da formare un volume di parecchi m^3.

La propietà di schiumeggiare si manifesta pure nell'acido glicirizzinico e nei suoi sali, ma non in tutti allo stesso modo.

L'acido glicirizzinico sbattuto schiumeggia alquanto, ma la schiuma è poco persistente; viceversa i suoi sali, e specialmente quello di ammonio, formano una schiuma densa che si mantiene tale per qualche tempo, ed è tanto più persistente, quanto più densa è la schiuma che si è formata agitando.

c) La radice di liquirizia polverata, il suo decotto, come pure

l'acido glicirizzinico ed i suoi sali, hanno un grande potere detergente simile a quello della saponina, che si manifesta meglio in ambiente appena alcalino.

Questa proprietà si osserva bene usando la radice di liquirizia polverata mescolata con acqua abbondante, appena alcalinizzata con qualche goccia di ammoniaca diluita, per lavare tele o panni, specie se unti di olio o grassi, quali la biancheria sporca, panni adoperati con sostanze grasse, etc.

L'uso famigliare però di questa radice è consigliabile solo per panni colorati — tinge in giallo pallido la biancheria — unti, ma non macchiati. Allora dà ottimi risultati, giacchè asporta completamente e rapidamente le sostanze grasse. Meno bene opera sulle macchie di diversa provenienza.

d) La glicirizzina, meglio il suo sale di ammonio o di potassio, ha potere emulsionante sulle sostanze grasse, e gli emulsoidi che si formano, si mantengono per lungo tempo.

Dell'olio di oliva sbattuto con debole soluzione acquosa di glicirizzinato di ammonio ha formato un'emulsione densa che si mantiene tale da oltre tre mesi.

Gli emulsoidi che si ottengono presentano dei caratteri microscopici che credo interessante mettere in evidenza.

L'osservazione fu fatta sopra la stessa emulsione di olio di oliva preparata da oltre tre mesi ad ingrandimento da 400 a 1000 diametri.

Le goccioline di olio, di grandezza varia da 10 micron ad 1 e più, hanno forma nettamente globosa che mantengono anche quando sono addensate tra loro. Ogni globetto oleoso è ricoperto da una membranella (membrana aptogena?) che resiste alle pressioni leggiere esercitate nel vetrino copriogetti e che appare leggermente zigrinata e pieghettata.

Schiacciando l'emulsione sul vetro porta oggetti, la menbrana si lacera in una parte, e, lasciata fuori uscire la goccia oleosa, si distende sopra un piano presentandosi limpida, trasparente, zigrinata e pieghettata, molto consistente.

e) La schiuma che si forma agitando i decotti di liquirizia, o le soluzioni dei sali dell'acido glicirizzinico, è capace di trattenere in sospensione, per un pò di tempo, delle sostanze insolubili che siano state mescolate ad essa. Aggiungendo ad una soluzione alcalina di glicirizzinato di ammonio del magistero di Bismuto finemente polverato, ed agitando, dopo varii giorni, si trovano ancora aderenti alle pareti della provetta porzioni di schiuma che trattengono tenacemente in sospensione il farmaco. Questa proprietà, almeno nel modo e colle sospensioni con le quali io ho esperimentato, non mi pare cosi spiccata da utilizzarsi in pratica.

Ottimi risultati invece si ottengono con l'acido glicirizzinico estratto coll'etere acetico. Siccome esso può trovare l'utile impiego

in molte preparazioni farmaceutiche me ne occuperò diffusamente in una nota apposita.

Migliore speranza è da riporsi invece nelle emulsioni di sostanze oleose che, essendo molto stabili e durature, possono trattenere bene ed a lungo in sospensione le sostanze insolubili che ad esse si siano aggiunte.

Le sospensioni acquose, osservate al microscopio, appaiono, dopo parecchi giorni della loro preparazione, come se le sostanze microcristalline fossero sospese attorno a piccole menbranelle e trattenute da esse.

2. — CARATTERI FISIOLOGICI.

a) La glicirizzina, come ho reso noto altrove (1), quando venga somministrata per le vie artificiali di assorbimento, esercita nell'organismo una notevole azione depressiva generale.

Riporto qui brevemente le conclusioni più importanti alle quali sono giunto in quel lavoro.

La glicirizzina è letale pei comuni animali da esperimento ai quali venga somministrata per le vie artificiali di assorbimento, e la morte avviene con fenomeni di forte depressione generale, specialmente a carico del cuore e del sistema nervoso centrale.

Portata sul midollo spinale, o iniettata nel canale rachideo, a piccole dosi, porta a morte gli animali di esperimento, determinando prima paresi e depressione della sensibilità generale, in seguito, abolizione della sensibilità e paraplegia completa.

Portata sul cervello a piccole dosi, e tali che per iniezione endovenosa sarebbero innocue, determina gravi fenomeni di depressione, abolizione della sensibilità dolorifica, ed in seguito porta a morte gli animali da esperimento.

Agisce prima come depressivo, poi come paralizzante, degli apparecchi moderatori ed acceleratori del cuore e del miocardio stesso.

Ha azione prima depressiva, poi paralizzante, non solo sui nervi di moto, ma anche sui muscoli.

Ha azione depressiva sui nervi di senso e sulle terminazioni nervose gustative.

b) Queste sostanze possiedono azione *emolitica* spiccata quando vengano a contatto col sangue. Una goccia di sangue mescolata con una goccia di soluzione di glicirizzina ed osservata al microscopio presenta subito delle emazie che si rigonfiano e si sciolgono.

Se si mescola del sangue defibrinato, lavato e allungato con soluzione fisiologica, con una soluzione di glicirizzinato di ammonio, si determina emolisi e, qualche tempo dopo, si ha un precipitato fioccoso. Per soluzioni 1/200 si ha emolisi immediata, e, dopo circa

mezz'ora, compare nella provetta un precipitato fioccoso che si raccoglie lentamente al fondo del recipiente. Per soluzione 1/2000, l'emolisi avviene in termostato a 37° dopo 2 ore e solo in progresso di tempo si forma il precipitato fioccoso.

Per soluzione 1/4000, dopo sei ore di permanenza in termostato, si ha emolisi incompleta.

I globuli rossi delle rane e degli uccelli (piccione) sono pure emolizzati da soluzioni di eguale concentrazione, i nuclei però restano intatti

c) I leucociti, immersi in soluzione 1/200 di glicirizzinato di ammonio, perdono subito i movimento ameboidi e assumono forma rotondeggiante.

Se le soluzioni sono diluite, i movimenti permangono più a lungo e, solo in progresso di tempo, assumono la forma sferica ed il nucleo diventa più chiaro.

Gli organismi inferiori (paramecium, stentor,) immersi in soluzione di glicirizzinato di ammonio 1/100 diventano torpidi ed anche riportati in acqua girano stentatamente su se stessi. I movimenti vibratili delle ciglia delle vorticelle, battono più lentamente sinchè si arrestano e l'animale pende rilasciato dal peduncolo.

d) I pesci vengono uccisi in 2 ore da soluzioni 1/2000.

e) Per iniezione sottocutanea, queste sostanze determinano negli animali superiori (cane) leggera irritazione locale, e, nel punto dell'iniezione, si osserva un leggero edema emorragico.

f) Per la via gastrica, il loro assorbimento è minimo : sono ben tollerate anche in gran quantità e determinano diarrea e leggera espettorazione.

Si eliminano per il rene in tanta piccola quantità da essere sfuggite alla indagine dei primi sperimentatori.

Ricordo le esperienze personali di WITTE che, dopo l'ingestione di 30 grammi di glicirizzina, ebbe qualche bruciore di stomaco, scariche diarroiche ripetute, ma non riscontrò farmaco nelle urine.

Dalle mie ricerche invece risulta che piccole quantità, e tali da richiedere una tecnica speciale per metterle in evidenza, passano nelle urine.

Iniettata sotto cute si elimina parte per il rene, parte per il tubo gastro-enterico. L'eliminazione compare mezz'ora circa dopo la somministrazione del farmaco.

CONSIDERAZIONI.

La glicirizzina, come risulta da quanto ho esposto, presenta delle proprietà — schiumeggia, emulsiona i grassi, ecc, — che ricordano, sebbene attenuate, le proprietà di un gruppo importante dei glicosidi : le saponine. Se poi consideriamo attentamente i caratteri fisici,

chimici e biologici di questa sostanza e contemporaneamente riscontriamo quelli delle saponine, questa somiglianza appare anche più chiara e tale che un raffronto tra queste sostanze si impone.

Per comodità del lettore enumero qui sotto, in un quadro comparativo-riassuntivo, da una parte i caratteri delle saponine, dell'altra quelli della glicirizzina.

SAPONINE.	GLICIRIZZINA.
1) Solubili in alcool e acqua, insolubili in etere.	1) Solubile in acqua, alcool, etere acetico, acido acetico, insolubile negli altri ordinarii solventi.
2) L'acido solforico concentrato le discioglie con un colore giallo che a poco a poco passa in rosso, talvolta anche in violetto e in bleu verde.	2) L'acido solforico concentrato la discioglie con un colore giallo che a poco a poco passa al giallo — rossastro.
3) Con acido solforico concentrato e bicromato di K si colorano in verde.	3) Con acido solforico conc. e bricromato di K si colora in verde.
4) Dibattute con acqua schiumeggiano fortemente. La schiuma è persistente.	4) La radice dibattuta con acqua schiumeggia fortemente. La schiuma è persistente.
5) Cogli olii e coi liquidi oleosi formano emulsioni alquanto stabili.	5) Cogli olii e coi liquidi oleosi forma emulsioni alquanto stabili.
6) La schiuma trattiene in sospensione le polveri insolubili colle quali viene sbattuta.	6) La schiuma trattiene in sospensione le polveri insolubili colle quali viene sbattuta.
7) Hanno grande potere detersivo perchè la schiuma emulsiona le sostanze grasse e resinose.	7) La radice polverata ha grande potere detersivo specie per la macchie di unto.
8) Per diretto contatto sulla pelle e sulle mucose determinano fatti irritativi e infiammatori.	8) Iniettata sotto cute determina leggeri fatti irritativi e infiammatori locali.
9) Per la via dello stomaco sono molto tollerate perchè il loro assorbimento è minimo, danno però luogo a nausea, e, in forte quantità, a vomito e diarrea.	9) Per la via dello stomaco è molto tollerata, il suo assorbimento è minimo, e, in forti dosi, ha leggera azione espettorante e lassativa.
10) Iniettate nel sangue hanno azione venefica molto pronunziata.	10) Iniettata nel sangue ha azione venefica.

11) Hanno azione paralizzante sul sistema nervoso centrale e sul muscoli (Schmiedeberg).

12) In soluzioni diluitissime presentano spiccata azione emolitica.

13) Sono violenti veleni protoplasmatici.

14) Sono intensamente velenose per i pesci.

15) Somministrate per bocca e per iniezione sottocutanea sono di difficile assorbimento.

11) Somministrata per la vie artificiali di assorbimento ha azione paralizzante sulisistema nervoso centrale, sulle terminazioni nervose e sul cuore.

12) Ha azione emolitica che si manifesta sino alle diluizioni 1 /4000.

13) E' un veleno protoplasmatico paralizzante per i leucociti e gli organismi inferiori.

14) Uccide i pesci alla diluizione 1 /2000.

15) Somministrata per bocca si assorbe in minime quantità. Somministrata per via sottocutanea l'eliminazione per il rene comincia dopo ½ ora dalla somministrazione del farmaco.

Come si vede la concordanza dei caratteri è quai unanime. Ma posso io perciò proporre senz'altro che essa venga considerata come una saponina, specie poi adesso che si dubita della natura glicosidica di questa sostanza?

E' noto che fu Gorup-Besanez a riconoscere a questa sostanza natura glicosidica, ma questa opinione fu contestata da Tschirch. Egli dimostrò che i prodotti di scissione della glicirizzina sono l'acido gliciritinico e l'acido glicuronico e quindi la glicirizzima non è un glicoside.

Io non credo preciò di potere, allo stato attuale della questione ed in base ai soli caratteri da me illustrati, venire alla conclusione che l'acido glicirizzinico appartenga al gruppo molto vasto e pocco conosciuto delle saponine — tanto più che Tschirch, paragonando questa sostanza alle altre, non trova con chi classificarla, rigetta l'opinione di Fränkel di avvicinarla al gruppo aminotriazine perchè non contiene azoto e formula l'ipotesi che formi un gruppo a sè — posso solo affermare che la glicirizzina ha molti caratteri comuni colle saponine.

Il mio scopo è stato solo quello di richiamare con questa notà l'attenzione degli studiosi su questo argomento ; spero di averlo raggiunto.

Ulteriori richerche chiariranno meglio questa importante questione e ci diranno se il principio attivo della liquorizia può essere compreso tra le saponine.

BIBLIOGRAFIA.

1. TOCCO L. — *Arch. Intern. de Pharm. et de Thérap.* XXVIII, pag. 1.
2. DORVAULT F. — *L'officine ou Répertoire général de Pharmacie pratique.* 1880, pag. 785. Edit. Asselin, Parigi.
3. *Hist. plant.* lib. IX, c. 13.
4. PERTZ. — *Monumenta Germaniæ historiea,* Legum, 1835, I. 186.
5. MIGNE. — *Patrologiae Cursus,* CXIV, 1122.
6. WRIGHT, *Volume of vocabularies,* 1857, 30.
7. *Libro della Agricoltura,* Venet, 1511, lib. VI, c. 62.
8. ROGERS. — *Hist. of Agriculture and Prices* 1866, II, 543.
9. *Chronicles of London Bridge*; 1827, 155.
10. *Compendium Aromatariorum,* Bonon, 1488.
11. FLÜCKIGER. — Die *Frankfürter Liste,* Halle, 1873, 10, 204.
12. WITTE. — *Meletemata de sacchari, manniti, glycyrrhizini in organismo mutationibus.* Dorp. 1856.
13. ROUSSIN. — Union pharm., 16, 205, 232, 1875.
14. GORUP. — BESANEZ, *Ann. Chem. Pharm.* 118, 236.
15. PFAFF. — *System der Mat. med.* 1, 187.
16. ROBIQUET. — *Ann. Chim.,* 72, 143.
17. VOGEL. — *Journal pract. Chem.* XXVIII, 1.
18. C. RUMP. — *N. Repert. Pharm.,* VI, 153.
19. VITALI. — *Enciclopedia di Chimica* (Guaresci) VII, pag. 178.
20. MARTIN, J. — *Chem. Min.,* 1860, 551.
21. M. ROUSSIN. — *Journal de Chimie et Pharmacie,* 1875. Paris.
22. J. HABERMANN. — *Sitz-Ber. d. K. Akad. von Wien,* 74, II Abt. Dec. 1878.
23. F. SESTINE. — *Gazzetta chimica Italiana,* 1878, pag. 454.
24. TSCHIRCH u. CEDERBERG. — *Arch. d. Pharm.* 245, 97 (1907).
25. P. u. W. KARRER u. I. C. CHAO. — *Helvetica Chimica Acta,* IV, pag. 100 (1921).

INSTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. UNIVERSITA' DI MESSINA.
(DIRETTORE : G. VINCI.)

Ricerche farmacologiche sulle sostanze insetticide.

I. — Il Crisantemo

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

... e una moltitudine di mosconi venne in su gli uomini e in su gli animali...
... e venne una gran mischia di insetti nella casa dei Faraoni e nelle case dei servitori...
E le locuste salirono sopra tutto il paese di Egitto...
ESODO. C. 8, v. 17 e 24 — C. 10, v. 14.

INTRODUZIONE.

Intitolo queste mie ricerche « Ricerche farmacologiche sulle sostanze insetticide » perchè le sostanze che studio, sebbene siano tossiche per tutti gli artropodi e per vermi ed io abbia esteso le mie esperienze a tutti questi animali, sono generalmente conosciute sotto questo nome.

La dicitura « Sostanze artropo-vermicide » sarebbe più esatta ma meno capita, mentre usando la parola insetticida esprimo il concetto popolare comune che vuole insetto ogni parassita.

Lo studio sistematico delle sostanze insetticide, che io intraprendo con questa nota, ha una grande importanza per l'economia e per l'igiene sociale.

Dalla storia dei popoli e dalla storia dell'ultima guerra è facile rilevare quanta influenza possono esercitare sull'umanità esseri così infimi e distanti da noi !

Raccolti dei campi distrutti per anni interi, vite umane mietute in quantità innumerabili, sono ricordi lontani e recenti.

Nell'ultima guerra tutta la scienza coalizzata non è riuscita a liberare i soldati delle trincee dai parassiti abituali. Molti mezzi furono usati, ma dopo pochi giorni si era daccapo.

Lontano dalle trincee, nei grandi agglomeramenti di uomini, le cose non andarono meglio e spesso le conseguenze furono dolorose come, ad esempio, l'epidemia di tifo petecchiale nell'isola dell'Asinara in Sardegna.

Altre volte l'insidia alla vita umana è subdola ma tenace e continua.

Ora sono le zanzare che disseminano nelle città e nelle campagne la malaria, ci obbligano a spese ingenti per la profilassi e la cura e mietono tante vite preziose per l'economia nazionale; ora sono le mosche che, posandosi dovunque, contribuiscono a diffondere, tra le altre malattie, la tubercolosi che miete 60.000 vite all'anno e ogni anno fa perdere all'Italia una battaglia campale senza che nessuno o pochi se ne accorgano.

Talora sono i frutti delle nostre terre, il pane, che questi nostri nemici ci tolgono.

E' vivo ancora in me il ricordo dell'invasione di cavallette che in poco tempo, nel 1912, distrusse il raccolto dell'ubertoso Campidano e della feracissima Trexenta nella mia Sardegna.

E quando non danneggiano, insudiciano le nostre case, molestano le nostre persone.

E' ovvio ricordare le diverse specie di blatte così comuni nelle città marine, le cimici, le pulci, e tutta la lunga serie di parassiti delle nostre case e delle nostre campagne, i quali non poco devono contribuire a diffondere malattie di eziologia ancora ignota.

Noi possediamo molti e svariati mezzi di difesa contro questi nemici, ma per lo più sono insufficienti. Si migliorano temporaneamente le condizioni dei colpiti, ma come cessa la lotta lunga e costosa, il flagello divampa più tenace di prima.

Tale fu il risultato della lotta antimalarica in Sardegna. Interrotta allo scoppiare della guerra, la malaria si riaccese subito più letale e disastrosa di prima. Lo stesso risultato ebbe la campagna contro le mosche in America. Se ne uccisero quantità enormi, ma sono tanto diffuse e tanto prolifiche che i mezzi usati riuscirono vani.

Uno studio quindi sulle sostanze insetticide si impone.

Una esatta conoscenza dell'azione farmacodinamica di queste sostanze può guidarci all'isolamento dei principii attivi o alla ricerca e alla preparazione di derivati che possiedano azione più energica e si possano preparare facilmente e in quantità tali da compensare vantaggiosamente l'enorme diffusione e la grandissima prolificità di questi animali.

Con questa prima nota io inizio appunto la serie delle mie ricerche e in essa mi occupo esclusivamente della polvere di crisantemo.

* * *

La polvere di crisantemo, sotto questo nome si intende il prodotto della macinazione dei capolini non ancora schiusi del Chrisanthemum cinerariæfolium e di altre specie affini, è uno dei migliori insetticidi, ed il suo impiego può riuscire utile per proteggere ambienti o estensioni di terreno circoscritte: ad esempio case, orti, giardini, ma non è il caso di parlarne quando si tratti di usarlo sopra un territorio esteso.

La produzione è limitata a determinate regioni ed è insufficiente ai bisogni mondiali.

Queste mie ricerche sulla polvere di crisantemo hanno lo scopo di indagarne l'azione biologica, sia per conoscerla in se stessa, sia per servirmene come base per isolare il principio attivo finora sfuggito all'indagine di tanti sperimentatori.

La polvere di crisantemo è usata da lungo tempo dai nativi in Dalmazia.

Il commercio però pare sia cominciato solo verso la fine della prima metà del 1800.

Le prime ricerche a me note sono quelle di De Visiani Roberto « Di due piante insetticide » memoria letta all'accademia di Padova nel 1854 (1) e quelle riportate da Polli G. nel 1862 (2).

Vengono quindi le esperienze di Hanaman (3) nel 1863.

Egli avrebbe scoperto nella polvere insetticida persiana una sostanza oleosa eterea di colore giallo pallido, di odore che ricorda quello di camomilla, la quale agirebbe sugli insetti producendo da prima torpore e poscia uccidendoli.

Il farmacista Kalbrunner (1874) (3) fece alcune esperienze col pyretrum cinerariæfolium coltivato nel suo giardino a Langenlois e stabilì che le mosche perivano in 2-3 minuti, mentre altre varietà di crisantemo avevano potere insetticida minore.

Jousset de Bellesme (1876) (4) avrebbe trovato nel piretrum carneum un alcaloide come sostanza attiva.

Rother (1877) (5) ha ricavato dalla polvere insetticida persiana 3 acidi : la persiceina che è di colore giallo grigiastro, di natura oleo-resinosa, che ha l'odore speciale della polvere ed è di sapore amaro ; la persiretina di colore rosso vinoso chiaro; la persicina di odore somigliante a quello del miele, che si scinde con gli acidi in zucchero e persiretina. Questo glicoside sarebbe la sostanza attiva, le altre due sarebbero inattive.

Textor (1882) (3) ritiene che il principio attivo sia una resina molle.

Marino Zuco (1890-91) (6) riuscì ad estrarre dai fiori ancora chiusi del Chrys. ciner. un alcaloide che, con gli alcali, si scindeva in trimetilammina, idrogeno, biossido di carbonio, acido-ossibutirrico ed acido priperidincarbonico, rivelandosi un derivato della esaidropiridina di carattere betainico.

E. SCHULZE e G. TRIER (7) hanno riscontrato nel fiore di crisantemo un'altra sostanza, la stahydrina, metilbetaina dell'acido hygrinico, insolubile in etere.

Dato però che la polvere insetticida esaurita con etere perde interamente il suo potere attivo, è da escludere che questa sostanza sia il principio attivo.

Per il giapponese S. Sato (8) l'azione insetticida sarebbe dovuta ad una resina sciropposa, il pyretrol (?).

J. FUJITANI (1909) (8) trovò il pyretron estraibile con etere che all'aria si decompone e per saponificazione dà il pyretrol che sarebbe, secondo l'A., un potente veleno per i nervi muscolari sui quali produce una forte eccitazione seguita da repentino indebolimento. A tale azione sarebbero specialmente sensibili gli insetti.

Numerosi altri AA., che ricordo senza citarli perchè ciò esorbita dal campo impostomi, si sono occupati di riconoscere le adulterazioni della polvere di crisantemo.

Da quanto ho sin qui succintamente riferito si deduce facilmente che le ricerche fatte per isolare il principio attivo hanno dato risultati poco soddifascenti anzi spesso contradittori.

Se si è molto discusso a quale sostanza sia realmente dovuto il potere insetticida, migliore accordo non regna sul modo come agisca questa sostanza e, sebbene generalmente si ritenga ch: si tratti di una vera e propria azione venefica, il meccanismo e la sede di azione sono tuttora ignorati, tanto che alcuni opinarono potersi trattare di un fatto meccanico di occlusione delle trachee degli insetti.

Siccome io ritengo che una esatta identificazione del principio attivo è solo possibile se si conosce bene la sua azione farmacodinamica, comunico queste ricerche sperando di portare sull'argomento un contributo utile.

Appunti di tecnica.

Siccome questo campo di ricerche sugli artropodi è poco battuto dai farmacologi, più che di mezzi tecnici generalmente conosciuti mi sono servito di artifizii tecnici, che ho escogitato ogni volta che ne sentiva la necessità nello sperimentare e che riporto nei diversi capitoli.

Come sostanze di esperimento usai la polvere dei fiori del Chrysanthemum cinerariæfolium e diverse polveri insetticide del commercio che, come è noto, sono a base di crisantemo.

Come animali da esperimento usai tutti gli artropodi che mi è stato possibile procurarmi.

Azione Tossica.

Questa sostanza è tossica per tutti gli artropodi, per alcuni più per altri meno, e l'avvelenamento decorre con una sintomatologia

che varia alquanto da animale ad animale ma resta identica nelle linee generali.

Insetti.

Ateuchus sacer. — Questo coleottero è così recettivo a questa sostanza che me ne sono servito per mettere in evidenza tracce minime di crisantemo.

E' un reattivo biologico prezioso per l'estrema sensibilità. L'avvelenamento si inizia rapidamente, si svolge lentamente e dura molto tempo.

Se si lancia una ventata leggera di polvere di crisantemo sopra uno scarafaggio che cammini liberamente per la sua strada dopo pochi secondi si nota che la marcia è più celere, i colpi di zampa meno regolari, la direzione incerta. Ritorna spesso sulla strada fatta aumentando sempre la rapidità del passo, sinchè il cammino diventa irregolarmente circolare.

Un esame attento ci spiega questi fenomeni.

L'animale ha le ultime zampe distese, e non può più piegarle, ma solo compiere con esse movimenti circolari di lateralizzazione. Siccome un arto è colpito prima dell'altro ne viene di conseguenza che l'animale muovendosi sposta continuamente la direzione del cammino, così come succederebbe ad una barca mossa da una sola fila di remi.

In seguito vengono colpiti gli arti medi e il coleottero poggia il corpo sul terreno e si trascina annaspando con gli arti anteriori sinchè anche questi non vengono lesi. Allora striscia con movimenti disordinati.

Mano mano che l'avvelenamento progredisce gli arti mediani e posteriori distesi tendono a portarsi verso la linea mediana sollevano il coleottero, e, avendo un piccolissimo punto di appoggio instabile, lo rovesciano sul dorso. E' impossibile rimetterlo in posizione ventrale, non vi stà se non tenuto a forza, e, come si abbandona, gli arti sollevano il corpo e lo rovesciano.

In questa posizione, sempre annaspando l'aria con movimenti delle zampe semicircolari a remo, permane 2-3 giorni.

Al terzo o al quarto giorno muore.

Musca domestica. — Da pochi secondi ad un minuto dopo che si è spolverata una piccolissima quantità di polvere di crisantemo in una camera, si sentono le mosche fare un frizzio caratteristico con le ali. Sono agitate, si muovono con vivacità, tratto tratto sostano sul loro cammino per passare e ripassare accuratamente le zampe posteriori sulle ali con la mossa abituale di pulizia a questi insetti, premono l'addome sul terreno e talora emettono feci abbondanti.

Arrivati a questo punto hanno la tendenza di vagare irrequiete

quà e là posandosi in genere sui muri dove camminano strisciando l'addome. Le zampe posteriori distese sollevano un poco il corpo ed obbligano la mosca, che si trascina con gli arti anteriori e medi, a camminare lateralizzandosi e poggiando ora sulla destra ora sulla sua sinistra. In seguito anche gli arti medi vengono portati dal farmaco in estensione e allora la mosca cammina ancora stentatamente per un poco con le due zampette anteriori, sinchè queste non restano distese.

Tuttavia anche in queste condizioni la mosca può sempre spostarsi servendosi delle zampette distese come di remi e facendo dei movimenti semicircolari.

Questo stato dura poco perchè le zampe si portano medialmente in basso, sollevano il corpo, e, siccome il centro di gravità viene a cadere fuori del punto di appoggio delle zampette, lo rovesciano sul dorso.

L'insetto resta così per un tempo più o meno lungo, a seconda della quantità di veleno assorbito, poi lentamente le zampette si ripiegano su se stesse e si incrociano ; se però si eccita l'animale possono ancora distendersi per contrarsi poi subito di nuovo. In queste condizioni permane da 12 a 24 ore, poi muore.

Una mosca buttata dall'alto, in qualunque tempo dell'avvelenamento, vola a lungo, ma se stanca cerca posarsi sulle pareti, cade a terra perchè ha gli arti prima distesi poi contratti.

A questo fatto si deve se, un ambiente tenuto al buio, si libera rapidamente dalle mosche. Le mosche cadute a terra sono incapaci di sollevarsi a volo di per se stesse.

Acridium Ægyptium. Caloptenus Italicus. — Data la mole corporea relativamente grande di questi ortotteri me ne sono servito per studiare l'azione di piccolissime dosi di crisantemo.

Appena toccati da traccie di polvere di crisantemo si mostrano agitati, girano quà e là, dilaniano il cibo con rabbia, saltano spesso.

Le prime zampe colpite sono le saltatrici. Dopo un salto si nota che l'animale le tiene distese, e, non riuscendo a piegare la tibia sul femore se non lentamente, tarda a rimetterle in posizione di salto.

Lentamente, col progredire dell'azione del farmaco, le saltatrici restano distese e l'ortottero può muoverle solo circolarmente in tutte le direzioni.

In secondo tempo vengono colpite le zampe medie e poi le anteriori. L'animale allora non riesce a sostenere il peso del corpo, poggia con la faccia ventrale del torace e dell'addome sul suolo, e muove le zampe distese con movimenti falciformi che compie lentamente annaspando a lungo l'aria.

In questo stadio la deambulazione è ancora possibile, sebbene molto difficoltata, ed è fatta con moti falciformi delle zampette che spostano il corpo sbandandolo ora da una parte ora dall'altra.

In seguito le saltatrici fortemente distese si portano in alto, le zampe verso la linea mediana, e l'animale giace immobile sopra un fianco. Eccitato reagisce con deboli movimenti degli arti. Se si butta dall'alto vola bene e a lungo, ma finisce col cadere a terra, perchè, non potendo usare le zampe, non può posarsi.

In queste condizioni permane 2-3-4 giorni, poi lentamente si rimette e ritorna vispo e vivace come prima.

Buttato in aria, anche quando giace immobile da 1-2-3 giorni, vola sebbene un pò sbandato dato che non è padrone delle zampe e delle saltatrici.

Lyogryllus campestris. — Il grillo all'inizio di azione del farmaco si mostra eccitato, cammina e salta vivacissimo. Dopo 30''-1' comincia a presentare qualche difficoltà nel camminare perchè le saltatrici non si piegano che lentamente e con difficoltà e l'animale è costretto a servirsi solo delle altre zampe.

Il salto è stentato e annaspa a lungo l'aria con le zampe saltatrici prime di poterle rimettere nella posizione normale di salto.

Se l'animale è lasciato in riposo, può saltare bene, ma subito dopo il salto compaiono dei movimenti disordinati tonico-clonici delle saltatrici e delle zampe.

In seguito sono colpite le zampe mediane, esse sono distese, alquanto sollevate dal suolo, il grillo non può piegarle ma solo muoverle con movimenti a guisa di remi che spostano il corpo sbandato in avanti.

Dopo un certo tempo anche le zampe anteriori sono portate in estensione, con le medie e con le saltatrici, in basso verso la parte mediana del corpo che sollevano e rovesciano sul dorso.

In queste condizioni può rimanere diversi giorni annaspando sempre l'aria con leggeri movimenti disordinati delle zampe e con movimenti addominali respiratori frequentissimi.

Se si butta dall'alto vola a lungo, ma non bene, perchè, a causa delle zampe, non può dirigersi.

In progresso di tempo le zampe anteriori e medie si contraggono e la tibia delle saltatrici si piega fortemente sul femore. Eccitato, o spontaneamente, può tratto tratto distendere le zampe contratte.

Il grillo mantiene la capacità al volo sino a poche ore prima della morte.

Mantis religiosa. — Questo simpatico insetto è molto sensibile alla polvere di crisantemo.

L'avvelenamento preludia con uno stato di agitazione che la monachella dimostra con una serie di atteggiamenti graziosi e vivaci e con ripetuti tentativi di volo.

In seguito si nota che il pregadio compie uno sforzo con le zampe medie per tenere sollevato l'addome che non è più sostenuto dalle zampe posteriori.

Queste sono distese, rigide, e siccome allora il peso del corpo grava tutto sulle zampe medie il povero mantide si mostra vivamente contrariato di non potere compiere con le zampette anteriori i suoi eleganti atteggiamenti di preghiera, essendo costretto ad usarle per tenere sollevato il corpo che altrimenti cadrebbe in avanti.

Tratto tratto è colpito da attacchi furibondi di rabbia impotente che sfoga in modo curiosissimo spiegando tutte le sue arti di mimetismo aggressivo.

Come le zampe medie si distendono sotto l'azione del veleno, la monachella trascina con grande stento il suo corpo con le due zampette anteriori e le tibie uncinate si piegano, per il grave sforzo che compiono ,sulle coscie.

Quando poi anche le zampe anteriori sono colpite, l'animale cade sopra un fianco o sul dorso ed in questa posizione permane a lungo facendo tratto tratto dei movimenti disordinati di annaspamento, poi le zampe si contraggono fortemente.

Lanciata in aria, o fatta cadere dall'alto, vola, ma non può dirigersi bene.

In queste condizioni permane 2-3-4 giorni.

Se gli si fa arrivare qualche mosca vicina, il mantide la segue con movimenti del capo, ma i tentativi che fa per rimettersi in piedi sono completamente vani.

Muore al 3-4 giorno.

Periplaneta Orientalis. — Come la blatta è colpita da un nembo di polvere si raccomanda inutilmente alla velocità delle sue zampette.

Corre celermente per un certo tratto ma poi si nota che le ultime zampe, rigide e distese, non poggiano più in terra, ma battono a vuoto con movimenti semicircolari.

Sebbene in queste condizioni continua rallentata la sua corsa per rifugiarsi in qualche fessura, ma, se questa è molto distante, non vi riesce perchè poco dopo non può padroneggiare le zampe medie che si distendono come e posteriori.

Allora il corpo poggia sul terreno ed è trascinato a stento dalle zampe anteriori sinchè le altre zampe non si portano stese nella linea mediana sollevano il corpo e lo rovesciano sul dorso.

In questo stato rimane un certo tempo, poi le zampe si contraggono e l'animale si crederebbe morto se non muovesse continuamente le antenne e tratto tratto non cercasse distendere le zampe.

Muore verso la fine del secondo giorno.

Aracnidi.

Epeira diademata. — Questo ragno sotto l'azione di abbondante polvere, rimane per un poco di tempo indifferente e continua le sue

faccende, poscia comincia a spostarsi a disagio perchè è poco padrone delle zampe posteriori, le muove a stento con movimenti circolari, e, prima di riuscire ad afferrare un punto, annaspa a lungo.

Progredendo l'azione del farmaco, anche le zampe mediane subiscono la stessa sorte e l'animale si agita con moti disordinati e circolari delle zampe.

Come vengono attaccate le zampe anteriori può cadere sul dorso.

In seguito le zampe si contraggono e l'aracnide resta immobile. Tratto tratto cerca distendere le zampe che subito si contraggono di nuovo.

Muore in 24 ore.

Crostacei.

Carcinus moenas. — E' interessante il modo di comportarsi del granchio.

Se si spolvera abbondantemente con crisantemo il capotorace di un granchio, da tempo tolto dall'acqua e bene asciutto, dopo molte ore, nulla si osserva a carico del crostaceo. Egli continua a muoversi, ad agitare le sue chele come se niente fosse stato.

Se si spolvera sulla regione ventrale, il più delle volte non si nota, dopo molto tempo, che leggera agitazione.

Se invece si mette il crostaceo in poca acqua contenente in sospensione polvere di crisantemò, o si bagna e si spolvera sulla regione ventrale, dopo 15'- 30' — 45' compaiono i sintomi caratteristici dell'avvelenamento.

Le prime colpite sono le zampe posteriori che si presentano distese e vengono mosse con movimenti semicircolari in tutti i sensi perchè sono sollevate dal terreno. In seguito, e lentamente, sono colpite le altre zampe. Allora il crostaceo poggia sulla faccia ventrale, le zampe sono distese, sollevate ed annaspano in tutte le direzioni.

Non è raro il caso che tutte, o parte delle zampe, si distacchino.

L'addome è sollevato e allontana la regione ventrale del torace dal suolo. Le chele sono le ultime colpite. Le appendici addominali sono pure distese.

In seguito le zampe si contraggono portandosi verso la parte mediana; sollevano il corpo del granchio, ne spostano il centro di gravità e lo rovesciano sul dorso.

Mariapodi.

Cermathia coleoptrata. — La fortuna è spicciativa anche sotto la polvere di crisantemo. Ai primi sintomi abbandona zampe ed antenne come quando la si vuole afferrare.

Ignoro il successivo destino.

* * *

Da quanto ho riferito risulta che la polvere di crisantemo è tossica per tutti gli artropodi.

L'avvelenamento decorre con una sintomatologia simile in tutti gli animali studiati. Si inizia con convulsioni tonico-cloniche che attaccano per primo l'ultimo paio di zampe e si estendono successivamente alle altre zampe.

I muscoli delle ali non vengono attaccati dal veleno che molto tardi, poco e lentamente.

La morte può avvenire dopo 12-24-72 ore a seconda della resistenza individuale e del quantitativo di farmaco somministrato.

Come agisce il crisantemo.

Siccome le opinioni degli AA. in proposito sono contraddittorie, per meglio illustrare questo capitolo di ricerche, in modo da non lasciare o ingenerare dubbi, riporto tutte le esperienze fatte, e dô in fine le conclusioni alle quali sono pervenuto.

Esperienza I. — In una camera di 36 mc. si polverizza con soffietto abbondante polvere di crisantemo, poi si chiudono le finestre.

In pochi minuti tutte le mosche esistenti cadono a terra.

Come si è sicuri che non ci sono più mosche sane e che tutta la polvere di crisantemo è deposta, si riaprono le finestre e si attirano altre mosche con piattini contenenti zucchero polverato in modo che le mosche si posino solo su questi piattini.

Si chiudono di nuovo le finestre e gli scurini. L'ambiente buio è saturo di odore di crisantemo

Dopo tre ore si fa luce e si trovano le mosche perfettamente normali T. 22°.

Esperienza II. — In una grossa campana di vetro si mettono numerosi *Ateuchus* e piccole locuste. In mezzo alla campana si sospende un cristallizzatore capace colmo di polvere di crisantemo e poi si chiude la campana con tappo di ovatta.

Dopo 48 ore l'ambiente è saturo di odore di crisantemo e gli insetti sono perfettamente normali. T 22°.

Esperienza III. — Alcune mosche si incollano per le ali sopra un quadrettino di carta che a sua volta si incolla sul coperchio di una scatola di Petri contenente uno strato alto mezzo centimetro di polvere di crisantemo. Si chiude la scatola.

Osservando per trasparenza lateralmente si osserva che le mosche sono sospese pochi millimetri sopra la polvere ed anche allungando le zampe non possono toccarla.

Dopo 12 ore le mosche sono sempre sane. T 22°.

Esperienza IV. — Si incollano, nel modo e nelle condizioni dette nell'esp. III, alcune mosche sul coperchio di una scatola di Petri che contiene abbondante polvere di crisantemo.

Si riscalda a b.m. il fondo della scatola di Petri sinchè i primi vapori cha partono dalla polvere si addensano nel coperchio ancora freddo.

Le mosche, dopo pochi secondi, presentano i sintomi caratteristici dell'avvelenamento e presto muoiono.

Esperienza V. — Della polvere di crisantemo viene essiccata per 6 ore in stufa a secco a T. di 136°.

Un insetto che venga a contatto con questa polvere muore in pochi secondi.

Esperienza VI. — Si incollano, nel modo e nelle condizioni dette nell'esp. III, alcune mosche sul coperchio di una scatola di Petri che contiene abbondante polvere di crisantemo essiccata a 136° per 6 ore.

Si riscalda a b.m. il fondo della scatola di Petri che si ha cura di allontanare tratto tratto quando il calore sul coperchio raggiunge i 30°. Pure protraendo a lungo questa esperienza dalla polvere di crisantemo non si sviluppano vapori.

Dopo 12 ore le mosche sono sempre normali.

Esperienza VII. — In fondo di una scatola di Petri si mette abbondante polvere e si copre col coperchio avente delle mosche incollate come nell'esp III.

T. 30°, Dopo tre ore le mosche presentano i primi sintomi dell'avvelenamento, poi muoiono.

Esperienza VIII — Stesse condizioni sperimentali dell'esp. VII solo che nel fondo della Petri si mette polvere di crisantemo essiccata a 136° per 6 ore ed attivissima.

Dopo 12 ore le mosche sono sempre sane.

Esperienza IX. — Si impasta della polvere con poco acqua e zucchero e con pennello appuntito si tocca un punto della parte superiore ed anteriore del torace di una grossa mosca, in un posto che non può toccare con le zampette.

Dopo due ore presenta i sintomi dell'avvelenamento.

Esperienza X. — In una boccia di lavaggio di gas si mette abbondante polvere di crisantemo. Nel tubo di deflusso si mette bambagia in modo da filtrare l'aria che si insuffla dall'altro tubo nella boccia con uno sprai e che circola in mezzo alla polvere agitandola continuamente.

Questa boccia è posta in comunicazione, a mezzo di tubo di gomma col lume riempito di bambagia, con un'altra boccia contenente scarafaggi e mosche.

Si fa circolare aria per parecchie ore nelle due boccie senza che gli animali presentino nessun disturbo .

Esperienza XI. — Si distilla a b.m. della polvere di crisantemo e si raccolgono le prime porzioni del distillato che si presentano come un liquido trasparente come acqua e che evaporato non lascia alcun residuo apprezzabile.

Le mosche e gli ateuchi toccati con traccie di questo distillato muoiono in pochi minuti.

La polvere di crisantemo riscaldata a 136° per 6 ore mantiene inalterata la sua attività, quindi il principio attivo non è volatile.

Per esplicare l'azione farmacologica è necessario il contatto che può essere diretto tra sostanza ed animale od indiretto in quanto che tracce minime di farmaco pervengono all'animale trascinate meccanicamente dal vapore acqueo.

E' probabile, ma non è dimostrato, che il principio attivo arrivato a contatto di un artropodo trovi in esso delle condizioni, che ancora mi sfuggono, che favoriscono il suo rapido assorbimento forse a mezzo dell'albero respiratorio (vedi cap. Assorbimento).

Assorbimento. — Eliminazione.

L'assorbimento è rapido ma la velocità varia a seconda della via di somministrazione.

Per applicazione diretta del farmaco in vicinanza dei centri nervosi (vedi esp. XIV) i sintomi dell'avvelenamento esplodono dopo pochi secondi.

Meno rapido è l'assorbimento quando la sostanza venga applicata sotto l'involucro chitinoso del torace (vedi esp. XV) o dell'addome (vedi esp. XVII) ; nel primo caso i primi sintomi insorgono dopo 30"-60", nel secondo caso più tardi.

L'avvelenamento insorge più lentamente quando la sostanza venga somministrata per os (esp. XIII) o spolverata sull'artropodo.

In quest'ultimo caso per quale via avviene l'assorbimento?

Le esperienze fatte sugli aracnidi e sui crostacei, e riportate nel capitolo « *azione tossica* », dimostrano che l'avvelenamento decorre lentamente nei ragni, e si sviluppa solo in determinate condizioni sperimentali nei crostacei. Ora è noto che nel ragno gli organi della respirazione sono costituiti da sacchi tracheali che comunicano con l'esterno per due aperture poste nella regione ventrale e nel gambero da branchie nascoste sotto lo scudo, mentre negli insetti sono diffusi dovunque (trachee) e si aprono all'esterno in tutto il corpo con numerose aperture (stigmi).

Sarebbe quindi probabile, ma non è dimostrato, che l'assorbimento avvenisse in questo modo : Traccie infinitesimali di farmaco (da tutte le ricerche eseguite mi sono formato il concetto che è una sostanza estremamente tossica) arrivano in vicinanza degli stigmi, o attraverso gli stigmi nelle trachee, e, siccome queste si diffondono in tutto il corpo e sono a contatto con tutti gli organi, vengono rapidamente assorbite e diffuse.

Per dimostrare questa mia opinione, che è basata sull'osservazione fatta sul gambero che l'avvelenamento non esplode se il farmaco non arriva alle branchie, sarebbe stato necessario sopprimere sperimentalmente negli insetti gli organi respiratori.

Tutti i tentativi fatti fallirono completamente. Occluse le trachee un insetto muore pressochè subito.

Sono allora ricorso a questo artefizio.

Un insetto era coperto di una polvere inerte leggermente inumidita per aderire al corpo (polvere di licopodio, amido) e poi posto sopra polvere di crisantemo. In tali condizioni sperimentali i sintomi dell'avvelenamento si presentano molto tardi.

Quest'esperienza, e quelle fatte nel gambero, corroborano la mia ipotesi, ma non la dimostrano, sebbene tutto ci conduca a ritenere che l'assorbimento, data la sua rapidità, deve avvenire per questa via.

L'eliminazione si compie molto lentamente.

Traccie minime di sostanza fanno cadere in convulsione gli Ateuchi per 3-4 giorni.

La lentezza dell'eliminazione si studia meglio negli *acridi*.

Riporto un'esperienza.

Esperienza XII. — Una grossa cavalletta viene toccata sul torace con pennello intriso di polvere, e come, dieci minuti dopo, compaiono i primi sintomi dell'avvelenamento viene accuratamente liberata dal crisantemo a mezzo di pennelli a spatola.

Per 72 ore l'animale è ancora incapace di padroneggiare l'ultimo paio di zampe.

Al quarto giorno è rimessa. Avvelenata di nuovo, nelle stesse condizione sperimentali, ricompaiono gli stessi sintomi che durano a lungo. Lo stesso avviene ripetendo questa esperienza per tre, quattro volte di seguito.

Ignoro per quale via si compie l'eliminazione. Tutti i tentativi fatti hanno naufragato di fronte a difficoltà tecniche che non sono riuscito a superare.

Azione cumulativa. — Assuefazione.

Queste ricerche furono fatte sulle cavallette che, data la loro mole, si prestano abbastanza bene.

L'uso continuo e prolungato di questa sostanza determina fenomeni di accumulo giacchè l'eliminazione è lentissima e non si compie mai, anche per dosi minime, in meno di 72 ore.

Ogni nuova somministrazione di farmaco, se si dà tempo all'organismo di eliminare il veleno, riproduce gli stessi sintomi (vedi esp. XII) e la morte avviene sempre quando si somministra crisantemo in quantità bastevole.

Smettendo la somministrazione del farmaco, gli insetti, se le dosi non sono state eccessive e l'animale non è venuto a morte, si rimettono completamente.

Diffusione del veleno negli organi.

Il veleno una volta assorbito si diffonde in tutto il corpo. Riporto un'esperienza.

Esperienza XIII. — Una grossa mosca viene lasciata per 12 ore digiuna, poi si piglia tra le dita e si obbliga a succhiare dello sciroppo contenente crisantemo in sospensione, cosa che fa volentieri.

Aiutato da un assistente, si lega con un filo di seta la proboscide e si lascia l'insetto a se. Muore con i sintomi caratteristici di questo avvelenamento.

Brandelli di questa mosca, tolte accuratamente le interiora, vengono date in pasto ad altre mosche, lequali pocodopopresentano i sintomi caratteristici diquesto farmaco.

Ignoro in quali organi il veleno si diffonda in maggior quantità.

Non si può stabilirlo per ora perchè la ricerca del veleno è sinora possibile solo con reattivi biologici e non con reattivi chimici.

Sede di azione.

Data l'importanza di questo argomento riporto alcuni protocolli delle esperienze più dimostrative e dò in fine le conclusioni alle quali sono pervenuto.

Esperienza XIV. — Ad una grossa mosca si tagliano le ali, poi con un paio di piccole forbici molto bene affilate ed appuntite, si asporta un pezzetto dell'involucro chitinoso del capo in modo da non ledere gli occhi.

Questa operazione riesce facile dopo poco esercizio.

Si lascia la mosca libera. Essa cammina e saltella quà e là. Con la punta di un pennello da miniatore si porta, sulla soluzione di continuo del capo, un granellino di polvere di crisantemo.

Quasi subito, o dopo pochi secondi, l'insetto si mostra agitato, viene colto da disordine di direzione, si inalbera sulle zampe e poi cade sul dorso immobile. In seguito compaiono contrazioni tonico-cloniche alle 2 zampe anteriori che si estendono poi alle altre zampe. Dopo qualche minuto la mosca è immobile. Se allora con debole corrente indotta si stimola l'animale le zampe si distendono ancora. Progredendo l'avvelenamento i muscoli non reagiscono più allo stimolo.

Esperienza XV. — Una mosca viene liberata dalle ali, e poi con le forbici si asporta un pezzo dell'involucro chitinoso laterale inferiore del torace.

L'animale lasciato libero si mostra come se fosse normale.

Con pennello molto sottile (da miniare), o con penna di pittura di ala di beccaccia, si porta sulla soluzione di continuo una traccia di crisantemo.

L'avvelenamento esplode dopo mezzo minuto, un minuto o più, e colpisce prima le zampe dalla parte dove è applicato il veleno, poi quelle dell'altro lato.

Esperienza XVI. — Si taglia la testa ad una mosca. L'insetto resta immobile.

Con punta di ago, o di pennello, si porta in corrispondenza del punto dove il torace si univa al capo, una traccia di crisantemo.

Subito guizza, tenta volare, cade, si dibatte. Le prime paia di zampe entrano in convulsioni, poi le altre.

Se si divide per metà il torace, in modo che non siano lesi i gangli toracici, le convulsioni permangono nei due segmenti; se si ledono i gangli le convulsioni scompaiono nelle zampe dell'anello corrispondente.

Esperienza XVII. — Ad una mosca, privata dalle ali, si asporta l'ultima porzione dell'addome e sulla ferita si pone polvere di crisantemo in modo però che non si diffonda attorno.

L'avvelenamento insorge tardi e colpisce per primo le zampe posteriori.

Se si stimola con debole corrente indotta l'animale quando è immobile, i muscoli delle zampe reagiscono ancora poi non più.

I muscoli delle ali reagiscono sempre per qualche tempo dopo la morte dell'insetto.

Esperienza XVIII. — Ad una mosca si asporta, con grande attenzione, una piccola parte dell' involucro chitinoso della parte ventrale del torace, e sulla ferita si applica un granellino di polvere di crisantemo.

Quasi istantaneamente compaiono le convulsioni delle zampe.

La sostanza attiva, contenuta nella polvere di crisantemo, è un energico veleno del sistema nervoso centrale degli artropodi.

Per applicazione locale, tanto sui gangli del cingolo esofageo, quanto sui gangli del torace, l'azione è energica ed immediata.

I centri del volo vengono attaccati molto tardi, poco e lentamente.

Questa sostanza agisce in primo tempo come eccitante, poi come paralizzante, del sistema nervoso centrale e dei muscoli.

CONCLUSIONI.

I.

La sostanza attiva, contenuta nella polvere di crisantemo, è tossica per tutti gli artropodi.

L'avvelenamento decorre con sintomatologia simile in tutti gli animali studiati, si inizia (quando si spolvera il crisantemo) con convulsioni tonico-cloniche che attaccano per primo l'ultimo paio di zampe. e si estendono poi successivamente alle altre zampe.

I muscoli delle ali non vengono attaccati dal veleno che molto tardi, poco e lentamente.

II.

L'azione farmacologica non si esplica senza contatto fra sostanza ed animale. Questo contatto può essere diretto od indiretto, in quanto che traccie minime di veleno pervengono all'animale trascinate meccanicamente dal vapore acqueo che si libera dalla polvere.

III.

L'assorbimento è rapido e la velocità varia con la via di somministrazione.

L'eliminazione è lenta e dura parecchi giorni.

IV.

La sostanza attiva ha azione cumulativa.

Non esiste assuefazione al veleno.

V.

Il veleno assorbito si diffonde in tutto il corpo.

VI.

E' un energico veleno del sistema nervoso centrale degli artropodi. Applicato nelle diverse parti del sistema gangliare la sua azione è energica ed immediata.

I centri del volo vengono attaccati tardi, poco e lentamente.

Essa agisce in primo tempo come eccitante, poi come paralizzante del sistema nervoso centrale e dei muscoli.

BIBLIOGRAFIA.

1. DE VISIANI. — *Accademia di Padova*, 1854.

2. POLLI. — *Annuali di Chimica*, Vol. 24, serie 3. a., 1862, p.257,

3. *Citati da* BERNAZIK e VOGEL. — *Trattato di Farmacoterapia*.

4. JOUSSET DE BELLESME. — *Jour. Pharm. et Chim.* (4) XXIV. pag. 139, 1876.

5. ROTHER. — *The Pharm. Journal* N° 317, p. 72 e N° 322, p. 172 (1877).

6. MARINO ZUCO. — *Rend. Acc. Linc.* (4) ; 6, 571, 1890. — *Gazz. Chim.* 1891, I, pag. 516.

7. E. SCHULZE e G. TRIER- — *Ztsch. Physiol. Chem.* 67, 59 (1910).

8. *Citati da* D. COSTA. — *Giornale di Chim. ind. e appl.*, 1922, IV, pag. 91.

AUS DEM PHARMAKOLOG. INSTITUT DER UNIVERSITAET ZUERICH
DIREKTOR : PROF. DR. CLOETTA

Experimentelle Untersuchungen über die Vaguserregbarkeit bei Hyperthermie und im Fieber

VON

HANS J. SCHMID.

Die engen *Beziehungen des vegetativen Nervensystems zur Wärmeregulation* lassen es schon rein theoretisch als wahrscheinlich erscheinen, dass wir dieses System im Fieberzustande nicht unverändert finden werden. Und in der Tat ist die Klinik des Fiebers zum grossen Teil der Ausdruck solcher Veränderungen im vegetativen Nervensystem (1), Veränderungen, die allerdings eine einheitliche Deutung noch nicht zulassen. Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten des vegetativen Nervensystems im Fieberzustande fehlen noch. Die vorliegende Arbeit möchte dazu beitragen, diese Lücke auszufüllen. Aus dem komplexen Problem greift sie eine der experimentellen Behandlung leicht zugängliche Fragestellung heraus : es soll die *elektrische Erregbarkeit des Nervus Vagus im Fieberzustande und vergleichsweise auch bei einfacher, passiver, durch Wärmeapplikation bedingter Hyperthermie* untersucht werden.

Während über die Vaguserregbarkeit im Fieber noch keine Arbeiten vorliegen, so ist dagegen die *Abhängigkeit der Vaguserregbarkeit von der Körpertemperatur* bei passiver Erwärmung und Abkühlung schon verschiedentlich untersucht worden. Doch gehen alle diese Arbeiten von einer anderen Fragestellung aus als wir : sie wollen das Verhältnis von Vagus und Accelerans cordis zu einander, sowie die Art ihrer Einwirkung auf das Herz beleuchten, und sie arbeiten daher mit grossen Temperaturdifferenzen, am Warmblüter insbesondere mit extremer Abkühlung. Ihre Ergebnisse lassen sich deshalb nicht ohne weiteres auf unser Problem übertragen : vor allem können die zahlreichen Versuche an Kaltblütern für uns prinzipiell nicht in Betracht kommen. Die ersten Versuche an Warmblütern stammen von BAXT (1) aus Ludwigs Institut. BAXT arbeitete mit kuraresierten Hunden, die er in einem temperierbaren Schranke erwärmte und abkühlte; er fand so die elektrische Erregbarkeit des Vagus im Temperaturintervall von 26,1°-42,8° unabhängig von der Körpertemperatur, während die Erregbarkeit des Accelerans mit der Temperatur stetig abnahm. In neuerer Zeit kamen

(1) Hier sei nur eine Beobachtung erwähnt, die den unmittelbaren Anstoss zu vorliegender Arbeit gab ; die Beobachtung nämlich, dass einzelne Fälle von Asthma bronchiale, die mit Lungentuberkulose kombiniert waren, ihre asthmatischen Beschwerden in fieberhaften Perioden jeweilen verloren.

O. FRANK (2) und X. OTT (3) mit blossen Abkühlungsversuchen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass sowohl bei Hunden als bei Kaninchen eine stetige Abhängigkeit des Vaguserregbarkeit von der Körpertemperatur nicht bestehe; und vor kurzem hat HACHENBERG (4) die Konstanz der Vaguserregbarkeit des Kaninchens bei Abkühlung bis 24° bestätigt. Alle diese Untersuchungen legen das Hauptgewicht auf extreme Abkühlung; Versuche mit Hyperthermie, welche allein sich mit unseren Versuchen vergleichen lassen, finden sich nur in der Arbeit von BAXT.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an Kaninchen ausgeführt. Im Prinzip bestand jeder Versuch darin, dass einerseits bei normaler, anderseits bei auf verschiedene Weise erhöhter Körpertemperatur eine Serie von Vagusreizungen verschiedener Reizstärken vorgenommen wurde. Dabei galt es als Regel, jeweilen insbesondere den Schwellenreiz festzustellen, d. h. diejenige Reizstärke, die eben noch eine Veränderung der Pulskurve hervorzurufen vermag. Zur Reizung diente der Sekundärstrom eines Schlitteninduktoriums; der Rollenabstand gab das Mass für die Reizstärke. Die Reizdauer betrug stets 4 Sekunden.

Indikator für die Wirkung der Vagusreizung war das Herz, resp. die Blutdruckkurve. Diese wurde mittelst eines Quecksilbermanometers auf die Kymographiontrommel aufgezeichnet. Die Gefässkanüle zur Registrierung des Blutdrucks lag meistens in der rechten A. carotis; in jenen Fällen, wo schon die eine A. carotis für die Erwärmung des Tiers in Anspruch genommen war (Circulation carotido-jugulaire, s. u.), lag sie in einer A. cruralis.

Die Körpertemperatur wurde während des ganzen Versuches durch ein tief ins Rektum eingeführtes Thermometer kontrolliert.

Die Beurteilung der Blutdruckkurve, ihre Auswertung zum Zwecke der Vergleichung der Vaguserregbarkeit bei verschiedener Temperatur, geschah folgendermassen:

1. wurden die bei normaler und bei erhöhter Temperatur gefundenen Schwellenreize miteinander verglichen.

2. wurde der Effekt gleich starker Reize bei verschiedener Temperatur verglichen, und zwar nach zwei Gesichtspunkten:

a) Einmal wurde die *chronotrope Herzwirkung des Vagus* berücksichtigt. Zu diesem Zwecke teilte ich nach dem Vorgange von BAXT (l. c.) die Pulskurve in Abschnitte von je zwei Sekunden und zählte die Anzahl der Pulsschläge in jedem dieser Sekundenpaare (1). Die Differenz zwischen der durchschnittlichen normalen Pulsfrequenz (pro 2 Sekunden) ausserhalb der Reizungen und der kleinsten Pulszahl, die in einem Sekundenpaar während der Dauer einer Reizung gefunden

(1) Eine übersichtliche graphische Darstellung der chronotropen Wirkung einer Vagusreizung erhält man, wenn man die so gefundenen Pulszahlen als Ordinaten auf der Zeit als Abszisse aufträgt.

Auf diese Weise entsteht für jede Vagusreizung eine charakteristische Kurve.

wird, stellt die Abnahme der Pulsfrequenz infolge der Vagusreizung dar und kann als Mass dienen für den Erfolg dieser Reizung.

b) Neben der chronotropen Vaguswirkung wurde auch die ***blutdrucksenkende Wirkung*** der Reize zum Vergleiche herangezogen, obgleich diese Blutdrucksenkung nicht allein von der Herzwirkung des Vagus abhängt, sondern zum Teil durch seine vasomotorische Wirkung bedingt ist. Aber als Mass für die Erregbarkeit des Nerven kann sie natürlich trotzdem dienen, und es empfahl sich ihre Berücksichtigung deshalb, weil in manchen Versuchen die chronotrope, in andern aber wieder die blutdrucksenkende Vaguswirkung deutlicher ausgesprochen ist.

Im allgemeinen lieferten alle drei Vergleichsmethoden übereinstimmende Ergebnisse in Bezug auf die Aenderung der Vaguserregbarkeit.

Was die *Art der Ueberwärmung* anbetrifft, so zerfällt die vorliegende Untersuchung in zwei Versuchsreihen : eine erste Reihe befasst sich mit der Veränderung der Vaguserregbarkeit bei passiver, durch Wärmeapplikation erzeugter Hyperthermie; die zweite Reihe untersucht die Vaguserregbarkeit im Fieber. Die beiden Reihen sollen im Folgenden getrennt besprochen werden.

Vorausgeschickt sei noch ein Wort über die Art der Narkose, die in den beiden Versuchsreihen verschieden war :

Die Tiere der ersten Versuchsreihe (passive Hyperthermie) wurden durch eine intravenöse Injektion von Somnifen (0,5 ccm. pro kg.) narkotisiert Die narkotische Wirkung hielt während der ganzen Dauer des Versuches gleichmässig an und überdauerte ihn noch um mehrere Stunden.

Leider erwies sich dieses Verfahren für die Fieberversuche als unbrauchbar. Die Kombination von Somnifen mit dem fiebererzeugenden Stoffe (Heujauche und Tetrahydro-β-Naphthylamin) wurde von den Tieren so schlecht ertragen, dass sie nur ganz unbrauchbare Pulskurven lieferten, wenn sie nicht gar während des Versuchs zu Grunde gingen. Daher wurden bei den Fieberversuchen die Tiere nur für die einleitende Operation (Freilegen des N. vagus und Einführen der Arterienkanüle) durch eine subkutane Aetherinjektion etwas betäubt. Die Wirkung war nach 10-15 Minuten verflogen, so dass die erste Vagusreizung, die frühestens 20 Minuten nach der Aetherinjektion erfolgte, nicht

---

Kurven solcher Reizungen, die mit gleicher Reizstärke, aber bei verschiedener Temperatur ausgeführt wurden, kann man zum anschaulichen Vergleich ins gleiche Koordinatensystem eintragen.

Derartige graphische Darstellungen sind auch die dieser Arbeit beigegebenen Figuren, nur mit dem Unterschiede, dass hier die Kurven nicht einzelnen Reizungen entsprechen, sondern einen Mittelwert geben aus allen Einzelkurven, die in den bei der Figur angegebenen Versuchen gewonnen wurden.

Die Marke auf der Abszisse bezeichnet den Moment der Reizung.

mehr in den Bereich der Narkose fiel. Ueberdies ergab ein besonders dafür angestellter Versuch, dass auch während der Dauer der Narkose ein Einfluss des Aethers auf die Vaguserregbarkeit nicht nachgewiesen werden kann.

A. Versuche mit passiver Hyperthermie.

In einer ersten Gruppe von Versuchen wurde zum Ueberwärmen der Tiere ein *elektrischer Heizteppich* verwendet. Da die auf dem Kaninchenbrett fixierten Tiere sich auf diese Weise nur sehr langsam erwärmen liessen und doch mit Rücksicht auf den Erfolg der Vagusreizungen eine allzulange Versuchsdauer vermieden werden musste, so wurde auf eine Prüfung der Vaguserregbarkeit vor der Erwämung verzichtet und das durch Somnifen narkotisierte Tier vorerst im Heizteppich eingewickelt erwärmt, bis, nach ungefähr einer Stunde, die Körpertemperatur um ca. 2° gestiegen war. Dann erst wurde das Tier aufgebunden, der rechte Vagus am Halse freigelegt, die Kanüle zur Blutdruckregistrierung in die rechte A. carotis eingeführt, und nun, bei erhöhter Temperatur, die erste Reizserie vorgenommen. Darauf wurde der Heizteppich entfernt und das aufgebundene Tier der spontanen Abkühlung überlassen, bis ca. 40 Minuten nach Beginn der Abkühlung die Normaltemperatur wieder erreicht war. Nun wurde die zweite Reizserie ausgeführt und dann das Tier abgebunden. Die gebrauchten Tiere gingen alle einige Stunden bis Tage nach dem Versuche zu Grunde.

Auf diese Weise wurden drei brauchbare Versuche gewonnen (No 3,5 und 6), doch hat diese Methode den Nachteil, dass sie die Feststellung der normalen Vaguserregbarkeit zu Beginn des Versuches vor der Erwärmung nicht gestattet.

Diesen Nachteil vermeidet eine andere Methode der Ueberwärmung, mit der eine zweite Gruppe von Versuchen durchgeführt wurde, und die sich für unsere Zwecke als geradezu ideal erwies. Es ist das die von HEYMANS 5) angegebene Methode der *Circulation carotido-jugulaire* (C. c. j.) Sie besteht im Prinzip darin, dass man zwischen die eine A. carotis und die gleichseitige V. jugularis externa ein U-Rohr einschaltet, und dass nun das im U-Rohr strömende Blut erwärmt oder abgekühlt wird durch fliessendes Wasser, das in einem Glasmantel nach Art eines Kühlers das U-Rohr umspült.

Als Beispiel dafür, wie diese Versuche sich im einzelnen gestalteten, soll hier einer davon ausführlicher wiedergegeben werden:

Versuch No. 8.

Gewicht des Kaninchens 2600 gr. Rektaltemperatur 39.1°. 2h 55 erhält das Tier 1 ccm Somnifen intravenös. Die zur Blutdruckregistrierung dienende Kanüle wird in die linke A. cruralis eingeführt, der rechte N. vagus am Hals freigelegt und nun gleich bei normaler Temperatur (38.7) eine erste Reizserie vorgenommen. Dann

werden die linke A. carotis und die linke V. jugularis externa freigelegt und das mit Ringerlösung gefüllte U-Rohr dazwischen geschaltet. Nach dem Lösen der Gefässklemmen — 3 h 35 — wird der Mantel, der das U-Rohr umgibt, mit Wasser von 60°-70° durchspült, und alsbald beginnt die Rektaltemperatur zu steigen. 3 h 50 hat sie 40.5° erreicht, und es erfolgt nun, bei dieser erhöhten Temperatur, eine zweite Reizserie. Darauf wird, von 3 h 55 an, das U-Rohr durch Wasser von 10° abgekühlt. 4 h 10 ist die Rektaltemperatur auf 38.4° gesunken, worauf eine dritte Reizserie vorgenommen wird.

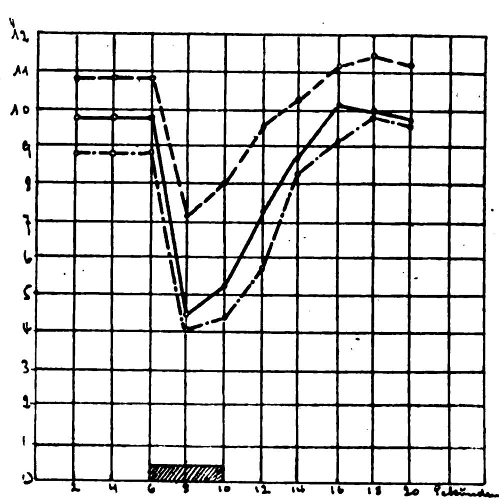
Ganz analog wurden die Versuche 7 und 12 durchgeführt. Die Tiere ertrugen diesen Eingriff sehr gut und erholten sich nachher alle wieder.

Alle Versuche mit passiver Hyperthermie haben zu übereinstimmenden Ergebnissen geführt : schon die drei Heizteppichversuche, wo jeweilen nur zwei Reizserien — die eine nach der Erwärmung, die andere nach der Abkühlung — zum Vergleiche vorliegen, zeigen deutlich, dass die *Vaguserregbarkeit bei erhöhter Temperatur geringer ist als bei Normaltemperatur*. Noch überzeugender aber kommt dieses Verhältnis zum Ausdruck in den drei Versuchen mit der Methode von HEYMANS (C. c.-j.) : Hier sehen wir, wie die Erregbarkeit zuerst während der Erwärmung sinkt, dann bei der Abkühlung wieder zunimmt und ungefähr auf ihren ursprünglichen Wert zurückkehrt, (siehe Figur 1).

Figur 1 (1).

(Durchschnitt der Versuche 7, 8 u. 12)

Pulschläge pro 2 Sek.



Die chronotrope Wirkung der gleichen Reizstärke bei Normaltemperatur und bei passiver Hyperthermie (C. c.-j.).

I. bei 38.8°
II. bei 40.6°
III. bei 38.3°

(1) Erklärung der Figuren siehe Seite 2 (Anmerkung).

Als Beispiel seien die Ergebnisse des eben beschriebenen 8. Versuches ausführlicher wiedergegeben :

Schwellenreize: I. bei 38.7°	26 cm.	Rollenabstand
II. » 40.5°	23 cm.	»
III. » 38.4°	26 cm.	»

Chronotrope Vaguswirkung : (1)

Rollenabstände :	20 cm.	22 cm.	23 cm.	Norm. Pulsfrequenz
I. bei 38.7°	4.3(51.8 %)	4.3(51.8 %)	4.3(51.8 %)	8.3
II. bei 40.5°	5.2(51.0 %)	3.2(31.4 %)	2.2(21.6 %)	10.2
III. bei 38.4°	5.5(64.7 %)	5.5(64.7 %)	4.5(52.9 %)	8.5

Blutdrucksenkende Vaguswirkung : (2)

Rollenabstände :	20 cm.	22 cm.	23 cm.
I. bei 38.7°	11 (24.4 %)	10 (20.2 %)	8 (18.7 %)
II. bei 40.5°	11 (26.2 %)	5 (12.2 %)	0
III. bei 38.4°	21 (51.2 %)	18 (54.5 %)	5 (12.2 %)

Ausser der Abnahme der Vaguserregbarkeit bei Hyperthermie lässt dieses Beispiel eine weitere Tatsache erkennen, die sich in gleicher Weise auch bei allen übrigen Versuchen gezeigt hat : die Tatsache nämlich, dass die besprochenen Unterschiede in der Erregbarkeit bei starken Reizen weniger hervortreten, während sie *umso deutlicher werden, je mehr sich die Reizstärke dem Schwellenreiz nähert*. Ich glaube darin auch die Erklärung gefunden zu haben dafür, dass Baxt (l. c.) bei seinen zwei Erwärmungsversuchen eine Abnahme der Vaguserregbarkeit nicht bemerkte ; er suchte nämlich die Schwellenreize nicht auf, sondern reizte stets mit unverändertem Rollenabstand, also mit einer einzigen Reizstärke, die allerdings nach seiner Angabe dem Minimalreiz nahe lag, aber doch wohl nicht nahe genug, um die Erregbarkeitsveränderung deutlich hervortreten zu lassen.

Um eine eventuelle *zentrale Komponente der Erregbarkeitsveränderung* festzustellen, wurden zwei Versuche (No. 11 u. 39) mit durchschnittenem Vagus durchgeführt, im übrigen aber ganz analog dem beschriebenen Versuch No. 8. Sie ergaben beide eine deutliche Abnahme der

(1) Die erste Zahl bedeutet die Abnahme der Pulsfrequenz infolge der Vagusreizung, d. i. die Differenz zwischen der durchschnittlichen Pulsfrequenz (pro 2 Sekunden) ausserhalb der Reizungen (siehe letzte Kolonne) und der geringsten Anzahl von Pulsschlägen, die in einem Sekundenpaar während der betreffenden Reizung gefunden wurde. In Klammern ist diese Abnahme der Pulsfrequenz in Prozenten der normalen Frequenz ausgedrückt.

(2) Hier gibt die erste Zahl den absoluten Blutdruckabfall in mm. Quecksilber an, die zweite, eingeklammerte Zahl dagegen den prozentualen Druckabfall, bezogen auf den Druck unmittelbar vor der Reizung.

Erregbarkeit bei der Erwärmung und eine entsprechende Zunahme be. der Abkühlung. Es verhä t sich also der durchschnittene Vagus bei einfacher Hyperthermie genau wie der intakte: Die Erregbarkeitsveränderung muss somit rein peripher lokalisiert sein.

Genaue *quantative Angaben* über die Abnahme der Vaguserregbarkeit bei Hyperthermie zu machen, ist nicht möglich; die Veränderungen in den einzelnen Versuchen sind dafür zu verschieden. Im Hinblick auf die Interpretation der Fieberversuche ist es aber von Wichtigkeit, wenigstens die Grössenordnung dieser Abnahme festzuhalten; und da zeigen unsere Versuche, dass bei einer Temperaturdifferenz von 2°—3° eine gleich starke Wirkung stets eine Differenz von mehreren Zentimetern Rollenabstand verlangt.

B. — Versuche mit aktiver Hyperthermie.

(Fieberversuche)

Zur Erzeugung einer fieberhaften Temperatursteigerung bedienten wir uns hauptsächlich der *Heujauche*, deren wirksames Prinzip wohl ein Gemisch verschiedener proteinogener Amine darstellt. Die intravenöse Injektion unseres Präparates bewirkte in Vorversuchen einen Temperaturanstieg von 1.5° — 2° innert 1½ Stunden. Um beim aufgebundenen Tiere eine ähnliche Temperatursteigerung zu erzielen, musste das Tier mit dem mässig erwärmten Heizteppich bedeckt werden, da sonst der bekanntlich durch die anormale Lage bedingte starke Wärmeverlust einen Temperaturanstieg unmöglich machte.

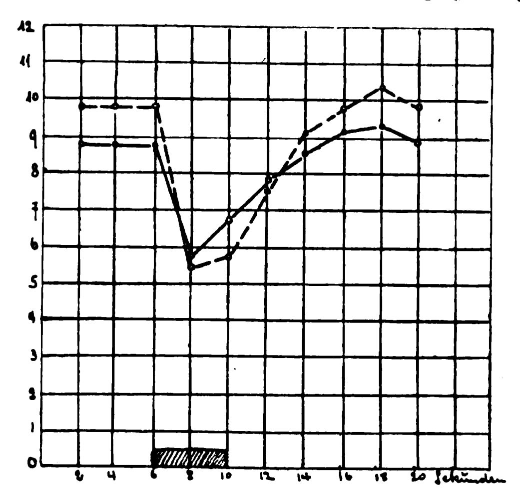
Die Injektion der Heujauche wurde in den ersten zwei Fieberversuchen — anfänglicher Misserfolge wegen — 10 Minuten vor dem Aufbinden des Tieres vorgenommen; die erste Vagusreizung erfolgte dementsprechend erst nach der Injektion, fiel also schon in den Bereich des Temperaturanstieges. Bei allen späteren Versuchen aber wurde die normale Vaguserregbarkeit vor der Heujaucheninjektion geprüft, sodass sich die Versuche nun folgendermassen gestalteten: nach der in Aethernarkose ausgeführten Operation (Freilegen des rechten N. vagus und Einführen der Kanüle zur Blutdruckregistrierung in die rechte A. carotis) wurde eine erste Reizserie bei normaler Temperatur vorgenommen; dann erfolgte die Heujaucheninjektion, die allerdings am aufgebundenen Tiere, will man eine schwere Schädigung desselben vermeiden, ausserordentlich langsam und ev. refracta dosi ausgeführt werden muss; endlich wurde 1 bis höchstens 1½ Stunden nach der Injektion, nachdem die Temperatur um 1° — 2° gestiegen war, eine zweite Reizserie vorgenommen.

Sechs solcher Versuche (No. 20, 21, 22, 23, 31, 38) stehen uns zur Verfügung um die Erregbarkeitsveränderung des intakten Vagus im Fieber zu untersuchen. Ihre Ergebnisse sind bei weitem nicht so eindeutig und übereinstimmend wie die der Versuche mit passiver Hyperthermie, und wenn sie auch in ihrer Mehrzahl auf eine leichte Steige-

rung der Erregbarkeit im Fieber hinweisen. so stehen dem doch einzelne Befunde mit geringer Abnahme gegenüber. Einen Mittelwert dieser Versuche, wie er sich in der chronotropen Wirkung darstellt, zeigt Figur 2 ; sie lässt eine ganz geringe Erregbarkeitssteigerung im Fieber erkennen. Die extremen Fälle zu beiden Seiten dieses Mittelwertes : Versuche 20 u. 22, seien hier als Beispiele ausführlicher wiedergegeben.

Figur 2 (1)

(Durchschnitt der Versuche No 20, 21, 22, 23, 31 u. 38).



Die chronotrope Wirkung der gleichen Reizstärke bei Normaltemperatur und im Fieber.

——————— I. bei 39.5°
— — — — II. bei 42.2°

Versuch No. 20.

Gewicht des Kaninchens 2100 gr. Rektaltemperatur 38.8°. 2 h 40 erhält das Tier 1 ccm. Heujauche intravenös, 2 h 45 subkutan 1 ccm. Aether. Darauf wird das Tier aufgebunden, der rechte N. vagus am Halse freigelegt und die Kanüle zur Registrierung des Blutdrucks in die rechte A. carotis eingeführt. Das Tier wird mit dem mässig erwärmten Heizteppich bedeckt. 3 h 05 bei einer Rektaltemperatur von 39.6°, erfolgt die erste Reizserie ; 3 h 40, bei 41.3°, die zweite. Ergebnisse :

Schwellenreize : I. bei 39.6° | 30 cm. Rollenabstand.
II. bei 41.3° | 36 cm. »

Chronotrope Wirkung : (2)

Rollenabstände :	25 cm	27 cm	30 cm	34 cm	Normale Pulsfrequenz
I. Bei 39.6°	3.5(41.2%)	2.5(29.4%)	0	—	8.5
II. Bei 41.3°	4.5(47.4%)	3.5(36.8%)	2.5(26.3%)	1.5(15.8%)	9.5

(1) Erklärung zu den Figuren, siehe Seite 2 (Anmerkung).
(2) Erklärung der Tabellen siehe Seite 6.

Blutdrucksenkende Wirkung : (1)

Rollen-abstände :	25 cm	27 cm	30 cm	34 cm	
I. Bei 39.6°	4 (11.1 %)	4 (15.3 %)	0	—	
II. Bei 41.3°	7 (30.4 %)	5 (20.0 %)	4 (15.5 %)	3 (13.5 %)	

Versuch 20 zeigt also eine deutliche Steigerung der Vaguserregbarkeit im Fieber, und zwar in allen drei Funktionen.

Versuch No. 22.

Gewicht des Kaninchens : 3300 gr. Rektaltemperatur 39.8°. 2 h 40 erhält das Tier 1 ccm Aether subkutan, darauf wird es aufgebunden, operiert wie oben und mit dem Heizteppich bedeckt. 3 h 00 erfolgt die erste Reizserie bei einer Rektaltemperatur von 39.5°. Dann erhält das Tier, von 3 h 10 — 3 h 20, 1,3 ccm Heujauche intravenös, 3 h 45 — 3 h 50 weitere 0,3 ccm. 4 h 10, bei einer Rektaltemperatur von 41,5°, wird die zweite Reizserie vorgenommen. Ergebnisse :

Schwellenreize : I. bei 39.5° | 27 cm. Rollenabstand.
II. bei 41.5° | 27 cm. »

Chronotrope Wirkung : (1)

Rollen-abstände :	20 cm	23 cm	25 cm	26 cm	Normale Pulsfrequenz
I. bei 39.5°	6.5(68.4%)	5.5(57.9%)	3.5(36.8%)	1.5(15.8%)	9.5
II. bei 41.5°	8.0(72.7%)	7.0(63.6%)	5.0(45.5%)	3.0(27.2%)	11.0

Blutdrucksenkende Wirkung : (1)

Rollen-abstände :	20 cm	23 cm	25 cm	26 cm	
I. bei 39.5°	17(30.7%)	10(20.0%)	4(8,2 %)	2(4.0%)	
II. bei 41.5°	12(29.2%)	7(18.0%)	4(9.5%)	2(4.8%)	

Versuch 22 zeigt also im Fieber eine Steigerung der chronotropen, eine geringe Abnahme der blutdrucksenkenden Wirkung (bei R. A. 20 u. 23), während der Schwellenreiz gleich geblieben ist.

Bei allem Mangel an Einheitlichkeit in ihren Ergebnissen haben die sechs Fieberversuche doch eines gemeinsam : allen *fehlt die deutliche Abnahme der Erregbarkeit im Fieber*, wie man sie nach den früheren Versuchen bei Temperatursteigerung erwarten sollte. Wenn nun, wie man doch wohl annehmen muss, der Einfluss der Temperatursteigerung an und für sich auch in diesen Versuchen wirksam ist im Sinne einer Herabsetzung der Vaguserregbarkeit in Fieber, diese Herabsetzung aber nicht nachgewiesen werden kann, sondern sogar meist eine Erregbarkeitssteigerung gefunden wird, so muss in der Heujauche ein Moment vorhanden sein, das die Vaguserregbarkeit erhöht und

(1) Erklärung der Tabellen, siehe Seite 6.

so die reine Temperaturwirkung mehr oder weniger kompensiert oder gar über-kompensiert.

Ist diese Ueberlegung richtig, so muss die erregbarkeitssteigernde Wirkung der Heujauche dann deutlicher werden, wenn man den Temperaturanstieg nach der Injektion verhindert. Das wurde leicht dadurch erreicht, dass man den Heizteppich nach der Injektion wegliess und das Tier nur soweit zudeckte, dass die Temperatur eben konstant blieb. Die Vaguserregbarkeit konnte so vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion bei gleichbleibender Temperatur geprüft werden. Zwei Versuche (N° 42 u. 43) sind auf diese Weise ausgeführt worden. Versuch No 43 sei als Beispiel hiehergesetzt.

Versuch No. 43.

Gewicht des Kaninchens 1850 gr. Rektaltemperatur 39.1°. 2 h 20 erhält das Tier subkutan 1 ccm Aether. Darauf wird es aufgebunden; die Kanüle zur Registrierung des Blutdrucks wird in die rechte A. carotis eingeführt, beide Nn. vagi freigelegt und der linke durchschnitten. 2 h 40 erfolgt die erste Reizserie an beiden Vagi bei einer Rektaltemperatur von 39.1°. 2 h 45-2 h 55 erhält das Tier 1 ccm Heujauche intravenös. Durch stärkeres oder geringeres Zudecken wird die Temperatur möglichst konstant gehalten. 3 h 05 erfolgt die zweite Reizserie bei einer Temperatur von 39.1° 3 h 25 die dritte bei 39.3°, 3 h 45 die vierte bei 39.6°.

Ergebnisse am intakten Vagus :

Schwellenreize:

I. Vor der Heujaucheninjektion	(T. 39.1°)	22 cm	Rollenabstand
II. 20 Min. nach der Heujaucheninjektion	(T. 39.1°)	25 cm	»
III. 40 » » » »	(T. 39.3°)	28 cm	»
IV. 60 » » » »	(T. 39.6°)	30 cm	»

Chronotrope Wirkung : (1)

Rollenabstände :	20 cm.	23 cm.	25 cm.	28 cm.	Norm. Puls-frequenz
.Vor der H.-J. Injekt.	5(50 %)	o	o	—	10
II. 20 Min. nach » »	6.5(61.9%)	4.5(42.9%)	1.5(14.3%)	—	10.5
III. 40 » » » »	6.5(61.9%)	—	5.5(52.4%)	o	10.5
IV. 60 » » » »	—	7.5(71.4%)	5.5(52.4%)	3.5(33.3%)	10.5

Blutdrucksenkende Wirkung : (1)

Rollenabstände :	20 cm.	23 cm.	25 cm.	28 cm.
I. Vor der H.-J. Injekt.	10(20.4%)	o	o	—
II. 20 Min. nach H.-J. Inj.	11(22.0%)	6(12.0%)	o	—
III. 40 » » » »	14(38.0%)	—	7(14.8%)	o
IV. 60 » » » »	—	13(28.3%)	7(14.8%)	4(8.7 %)

Ganz analog ist Versuch No. 42 durchgeführt worden; seine Ergebnisse stimmen weitgehend mit den hier dargestellten überein.

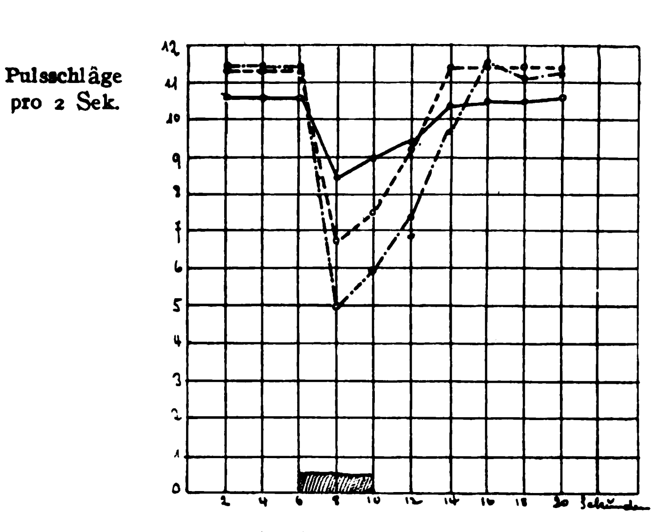
---

(1) Erklärung der Tabellen; siehe Seite 5.

Beide Versuche zeigen die erwartete *Erregbarkeitssteigerung durch Heujauche*. Sie zeigen ferner, dass die Erregbarkeitssteigerung nicht sogleich nach der Heujaucheninjektion ihre volle Grösse erreicht, sondern erst allmählich ansteigt. Figur 3 bringt diese Verhältnisse zur Darstellung, soweit sie in der chronotropen Vaguswirkung zum Ausdruck kommen ; sie gibt einen Mittelwert aus den Versuchen 42 und 43.

Figur 3. (1)

(Durchschmitt der Versuche 42 u. 43)



Der Einfluss der Heujauche auf die chronotrope Vaguswirkung der gleichen Reizstärke bei konstanter Temperatur.

———————— I. vor der Heujauchen-Injektion.
— — — — II. 20 Min. nach der H.-J.-Injektion
—— - —— - —— III. 60 » » » »

Die Tatsache eines nur allmählichen Anstiegs der Erregbarkeit nach der Heujaucheninjektion entspricht auch dem Ergebnis der Versuche No 20 und 21, wo die erste Reizserie 20 resp 30 Minuten nach der Heujaucheninjektion stattfand. Würde hier die Erregbarkeitssteigerung sogleich nach der Injektion ihr Maximum erreicht haben, so hätte sich nachher nur die durch die Temperatursteigerung bedingte Erregbarkeitssenkung nachweisen lassen; es zeigen aber beide Versuche im Gegenteil eine Steigerung der Erregbarkeit im Fieber.

Auch quanti ativ entspricht die Erregbarkeitssteigerung, wie sie die Versuche No. 42 und 43 erkennen lassen, ungefähr dem, was wir nach unserer Ueberlegung erwarten mussten : denn tatsächlich ist sie

(1) Erklärung zu den Figuren, siehe Seite 2 (Anmerkung).

von derselben Grössenordnung, wie die Erregbarkeitsabnahme, die sie kompensieren soll: hier wie dort zeigen Rollenabstände, welche dieselbe Wirkung hervorrufen, eine Differenz von mehreren Zentimetern.

Ob die Erregbarkeitszunahme infolge der Heujaucheinjektion rein peripher zu lokalisieren ist wie die Abnahme bei passiver Hyperthermie, oder ob hier ein *zentraler Einfluss* mit im Spiele ist, sollte durch einige Versuche mit durchschnittenem Vagus festgestellt werden. Diese Versuche wurden im übrigen genau gleich durchgeführt wie die besprochenen am intakten Vagus; die erste Reizserie wurde hier stets vor der Heujaucheninjektion vorgenommen.

Drei derartige Versuche (No. 35 u. 37, ferner No 38, wo neben dem intakten rechten auch der durchschnittene linke Vagus geprüft wurde) stehen uns zur Beurteilung der Erregbarkeitsveränderung am durchschnittenen Nerven zur Verfügung Sie zeigen ähnliche Verhältnisse, wie wir sie am intakten Vagus gefunden haben: Geringe Ausschläge der Erregbarkeitsänderung nach beiden Richtungen, wobei jedoch die Tendenz zur Erregbarkeitssteigerung weniger ausgesprochen ist, als am intakten Vagus Immerhin fehlt auch hier durchweg die starke Herabsetzung der Erregbarkeit, wie sie bei passiver Hyperthermie auch am durchschnittenen Vagus nachzuweisen ist. Es lassen sich also hier die gleichen Ueberlegungen anstellen, die wir oben beim intakten Vagus ausgeführt haben, und es war daher geboten. auch beim durchschnittenen Vagus die Einwirkung der Heujauche unter Ausschluss der Temperaturwirkung zu prüfen. So wurde denn in den Versuchen N° 42 u. 43 parallel mit dem intakten rechten auch der durchschnittene linke Vagus vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Heujaucheninjektion bei konstant gehaltener Temperatur auf seine Erregbarkeit untersucht.

Dabei zeigte Versuch N° 42 zwanzig Minuten nach der Heujaucheninjektion eine bedeutende Zunahme der Erregbarkeit gegenüber dem Ausgangswert; 40 Minuten nach der Injektion hatte die Erregbarkeit schon wieder abgenommen, und 60 Minuten nach der Injektion war sie wieder auf den Ausgangswert vor der Injektion zurückgekehrt. Der 43. Versuch dagegen lässt eine Erregbarkeitssteigerung überhaupt nicht erkennen: Die Erregbarkeit war vor sowie 20, 40 und 60 Minuten nach der Injektion stets ungefähr die gleiche.

Es ist unmöglich, mit diesem wiederspruchvollen Material die Frage nach einer zentralen Komponente der Erregbarkeitssteigerung endgültig zu beantworten. Immerhin lassen sich daraus vielleicht doch einige Anhaltspunkte gewinnen:

Bedenkt man einerseits dass Temperaturerhöhung allein auch am durchschnittenen Vagus eine dèutliche Herabsetzung der Erregbarkeit bedingt wie sie keiner der Versuche N°. 35, 37 u. 38 zeigt; bedenkt man ferner, dass im 42. Versuch die Heujauche bei gleichbleibender Temperatur auch am durchschnittenen Vagus eine Erregbarkeitsstei-

gerung bewirkt, so kann man sich des Eindrucks nicht erwehren, dass die *erregbarkeitssteigernde Wirkung der Heujauche mindestens zum Teil peripher angreift.*

Vergleicht man anderseits die Ergebnisse am durchschnittenen Vagus mit denen, die wir am intakten erhalten haben, so erscheint am durchschnittenen Vagus die Erregbarkeitssteigerung durch Heujauche geringer und flüchtiger als am intakten; ja im extremen Fall von Versuch 43 fehlt sie am durchschnittenen überhaupt, während sie am intakten deutlich vorhanden ist. Diese Unterschiede scheinen doch dafür zu sprechen, dass bei der erregbarkeitssteigernden Wirkung der Heujauche *auch eine zentrale Komponente* mit im Spiele ist.

Mehr als diese Eindrücke aber lässt sich aus dem vorliegenden Material kaum herausholen.

Bei allen Fieberversuchen wurde, nachdem die Erregbarkeit im Fieber geprüft worden war durch eine subkutane *Pyramidoninjektion* die Temperatur wieder zur Norm zurückgeführt und dann eine dritte Reizserie vorgenommen. Es ist aber ganz unmöglich, aus den einander diametral widersprechenden Ergebnissen dieser Versuchsphase irgendwelche Schlüsse zu ziehen, und so kann hier wohl auf deren Besprechung verzichtet werden. Doch sei noch erwähnt, dass Pyramidon allein, bei gleichbleibender, normaler Körpertemperatur, keinen Einfluss auf die Vaguserregbarkeit hat.

Nach der Feststellung einer erregbarkeitssteigernden Wirkung der Heujauche auf den Vagus musste sich die Frage erheben, ob die Temperatursteigerung und die Steigerung der Vaguserregbarkeit Wirkungen der gleichen Substanz sind, oder ob sie durch verschiedene Substanzen unabhängig voneinander zustande kommen. Es war daher von Interesse, neben dem toxixch-infektiösen Fieber durch Heujauche auch ein rein chemisches, durch eine bestimmt definierte Substanz hervorgerufenes Fieber auf die Veränderung der Vaguserregbarkeit zu untersuchen. So wurden denn eine Reihe von Versuchen mit *Tetrahydro-β-Naphthylamin* als fiebererzeugendem Mittel durchgeführt, ganz analog den Versuchen mit Heujauche. Leider führten alle diese Versuche — zwölf an der Zahl — zu keinem brauchbaren Resultate, da die Substanz, wahrscheinlich zusammen mit der unnatürlichen Lagerung, der Operation und der Vagusreizung das Herz derart schädigte, dass die Tiere zum Teil während des Versuches zu Grunde gingen, dass aber auch im besten Falle wegen schlechten Pulses und Krämpfen nur mangelhafte Kurven zustande kamen. Nimmt man die besten Resultate zusammen, so hat man immerhin den Eindruck, dass die Verhältnisse hier ähnlich liegen wie bei den Versuchen mit Heujauche, dass insbesondere auch hier im Fieber die Abnahme der Vaguserregbarkeit ausbleibt, die durch die Temperatursteigerung allein bedingt würde.

Wenn wir zum Schlusse noch diese Ergebnisse mit den eingangs erwähnten Problemen der *Klinik des Fiebers* in Beziehung setzen wollen,

so müssen wir uns zuerst darüber klar werden, dass wir es dort nicht mit der Erregbarkeit, sondern mit dem Tonus des Vagus und seinen Veränderungen zu tun haben. Nun stehen zwar Tonus und Erregbarkeit nicht in einem direkten Verhältnis zueinander; aber letzten Endes hängt die Wirkung des Tonus doch auch von der Erregbarkeit ab, und so sind wir wohl berechtigt, unsere Ergebnisse — cum grano salis — mit den klinischen Erscheinungen zu vergleichen.

Dabei scheint es mir, dass diese Ergebnisse unser Verständnis für die Vieldeutigkeit der Fiebererscheinungen im Bezug auf das vegetative Nervensystem tatsächlich zu fördern vermögen. Das hier experimentell demonstrierte Gegenspiel von vaguserregbarkeits-fördernden und — hemmenden Einflüssen bei infektiösem Fieber lässt uns z. B das in der Klinik der fieberhaften Infektionskrankheiten längst bekannte verschiedene Verhalten der Pulsfrequenz besser verstehen : je nachdem die erregbarkeitssteigernde Wirkung des Toxins oder die hemmende Wirkung der Temperaturerhöhung überwiegt, wird der Vagustonus und damit die Pulsfrequenz sich verschieden verhalten. Da gerade das tuberkulöse Fieber sich durch starke Pulsbeschleunigung, also Herabsetzung des Vagustonus, auszeichnet, wird auch die eingangs erwähnte Beobachtung vom Nachlassen des asthmatischen Zustandes in den Fieberperioden Tuberkulöser verständlich.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE.

1) Passive Hyperthermie bewirkt beim Kaninchen eine Herabsetzung der Vaguserregbarkeit sowohl am intakten als am durchschnittenen Nerven.

2) Das Verhalten der Vaguserregbarkeit im Fieber ist bedingt durch zwei einander entgegenwirkende Faktoren : einerseits die Steigerung der Erregbarkeit durch die fiebererzeugende Substanz, anderseits die Herabsetzung der Erregbarkeit infolge der erhöhten Temperatur. Je nach dem Verhältnis dieser zwei Faktoren kann die Vaguserregbarkeit im Fieber gesteigert oder herabgesetzt sein Die Steigerung der Erregbarkeit scheint z. T zentralen Ursprungs zu sein, da sie der durchschnittene Nerv weniger deutlich zeigt als der intakte.

LITERATUR.

1. N. Baxt. — Ueber die Stellung des N. vagus zum Accelerans cordis. *Ber. d. sächs. Ges d. Wissensch.* Bd. 26, S. 323, 1875.

2 O Frank. — Der Einfluss der Herztemperatur auf die Erregbarkeit der beschleunigenden und verlangsamenden Nerven. *Ztschr. f. Biologie* Bd 49, S. 392, 1907.

3. X. Ott. — Einfluss der Temperatur auf Herztätigkeit und Vaguserregbarkeit. *Diss. Giessen* 1908.

4. A. HACHENBERG. – Ueber die Wirkung der Abkühlung des Warmblütlers auf die Herzschlagzahl. *Pflügers Archiv*. Bd 194, S. 308, 1922.

5. J. F. HEYMANS — Iso-, hyper- et hypothermisation des mammifères par calorification et frigorification du sang de la circulation carotido-jugulaire anastomosée. *Archives internat. de Pharmacodynamie et Thérapie*. Vol. 25, P. 1, 1921.

---

contrôle de la « réaction actuelle » des tissus animaux par les fils-indicateurs. Une méthode pour le diagnostic de la mort, p. 395. — S. KATZENELBOGEN, Recherches expérimentales sur l'action de l'arsylène, p. 407. LUIGI TOCCO, Sull avvelenamento per Carlina gummifera. — Nota IV. Ricerche chimiche e farmacologiche sopra alcuni sali e sui prodotti di scissione dell' acido atradylico e loro azione in rapporto alla costituzione chimica, p. 421. — G. CORONEDI, Nécrologie de Riccardo LUZZATO, p. 441. — J. F. HEYMANS et C. HEYMANS, Hyperthermie et augmentations du volume respiratoire et de l'élimination de l'anhydride carbonique par le bleu de méthylène, (11 fig.), p. 443.

1923, Vol. XXVII. — ARTHUR VAN DESSEL, Répartition du chloroforme dans le sang, p. 1. — EDGARD ZUNZ et ALEXIS DELCORDE, Recherches sur l'action de la codéine sur la digestion de la viande chez le chien, (2 fig.), p 23. — H. RITZ, Les alcoylarsinates dans la trypanosomiase expérimentale, p. 67. — R. BRUYNOGHE et R. APPELMANS, La neutralisation des bactériophages, p. 81. — R. APPELMANS, Au sujet de la valeur thérapeutique des bactériophages, p 85. — B WIKI, Recherches pharmacodynamiques sur les somnifères de la série barbiturique, (3 fig.), p. 117. — DAVID I. MACHT, A pharmacological examination of benzaldehyde and mandelic acid,(9 fig.), p 163 — DAVID I. MACHT, A contribution to the chemical-pharmacodynamic relationships of atropin and homatropin, (24 fig.), p 175. — V. E. HENDERSON, On the action of atropine on intestine and urinary bladder, (2 fig.), p 205 — ANTONIN CLERC et PIERRE NOËL DESCAMPS, La quinine et la quinidine. Leur action comparée sur le cœur de chien *in situ*, (6 fig.), p. 213. — CHAUNCEY D. LEAKE et ALFRED E. KOEHLER, Blood reaction under morphine, (2 fig.), p 221. — W BURRIDGE, Experiments with morphine,(7 fig.), p 231. — W. BURRIDGE, Note on the alcohol problem, (1 fig.), p. 239. — W. BURRIDGE, Observations on antagonisms of excitability, (6 fig.), p. 243. — C. HEYMANS, Le bleu de méthylène, antagoniste des excitants parasympatiques, (7 fig.), p 257. — VITTORIO SUZANNA, Azione della coffeina sulla frequenza delle pulsazioni cardiache, (5 fig.), p. 265. — MARCEL LE FÈVRE DE ARRIC, De l'action des colloïdes métalliques sur la toxine diphtérique, la staphylotoxine et la staphylolysine, (4 fig.), p. 277 — J. F. HEYMANS et C. HEYMANS, Hyperdéperdition calorique pendant l'hyperthermie par le bleu de méthylène, (6 fig.) p 319. — GEORGE B. ROTH, Studies on the Autonomic System. I. The Antagonism of the Stimulant Action of Barium Chloride on the Excised Surviving Small Intestine of the Frog (Rana Pipiens) by means of Epinephrin, Pilocarpin and Atropin (6 fig.) p 333. — W. BURRIDGE, Cardiac spasm and the spasm of anaphylactic shock, a paralell, (3 fig.), p 347. — W. BURRIDGE, Experiments on the mode of action of Aconite, (9 fig.), p. 353. — LUIGI TOCCO, Contributo sperimentale allo studio dei corpi filanti, p. 363. — E. BARDIER & A. STILLMUNKÈS, La Syncope Andrénalino-chloroformique, (11 fig.), p. 375. — LUIGI TOCCO, Modificazioni strutturali determinate dai cardiocinetici sugli elementi delle miofibrille, (18 fig.), p. 415 — E ROTHLIN, Recherches expérimentales sur l'Ergotamine, alcaloïde spécifique de l'Ergot de Seigle, (24 fig.) p. 459. — J. G. BRODY and TORALD SOLLMANN, The effect et Quinidin and other Cinchona Alkaloide on Striped Muscle, (9 fig.), p. 481.

1923, Vol. XXVIII. — PAUL HAUDUROY, Sur la constitution du Bactériophage de d'Hérelle et sur le mécanisme de la lyse, p. 1. — LUIGI TOCCO, Ricerche chimiche e farmacologiche sul principio attivo-glicirizzina della Liquorizia. (Glycyrrhiza glabra *L*—Glycyrrhiza α tipica, *Reg. e Herd.*), p. 11. — W BURRIDGE, Experiments with pilocarpine, (7 fig.), p. 23. — W. BURRIDGE, Experiments with uranium. (4 fig.), p. 31. — W. BURRIDGE, Experiments on the actions of Ringer's solution on the heart, (10 fig.), p. 37. — C. HEYMANS, La tachycardie et la tachypnée pendant l'hyperthermie par le bleu de méthylène (III pl.), p. 51. — PIETRO-MARIA NICCOLINI, Contributo allo studio farmacologico dell' emetina (Nota IIIa), (3 fig.), p 61. — EMILE LENZ, Mouvements intestinaux normaux et action péristaltogène des purgatifs antraquinoniques, (XII pl. — 103 fig.), p. 75. — J WAGEMANS, La recherche des Bactériophages dans la nature p. 159. — J WAGEMANS, Sur la constitution des bactériophages et leur neutralisation p. 181. — H DEPLA, L'influence des matières colorantes sur les cultures, p 223. — P. BRUTSAERT, Contribution à l'étude de l'antigène du staphylocoque, p 235 — A J. CLARK and LOUIS GROSS, The action of blood on insolated tissues, (9 fig.), p. 243. — W. EASSON BROWN and V. E HENDERSON, On Ethylene as an Anæsthetic (4 fig.), p. 257. — LUIGI TOCCO, Sulle modificazioni che si osservano nelle miofibrille sotto l'azione dell' atropina, della pilocarpine della nicotina (3 fig.), p 265 — LUIGI TOCCO-TOCCO, Sulle cause che modificano la reazione della strofantina, praticata facendo agire l'acido solforico, nei semi invecchiati, p 289 — LUIGI BACIALLI e PIETRO-MARIA NICCOLINI, Contributo allo studio dell' azione farmacoterapeutica di alcuni narcotici, ipnotici, e antispasmodici sull' utero. (8 fig.), p 381 — C. HEYMANS, Influence des ions et de quelques substances pharmacodynamiques sur le cœur d'Aplysia limacina, (13 fig.), p. 337.

Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. XXVIII, fasc. V-VI.

MAISON D'ÉDITION I. VANDERPOORTEN, RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.

